

UNIVERSIDAD DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**El análisis fluorimétrico de los 11-oxicortocosteroides en
plasma (cortisol plasmático) y su empleo en la valoración
clínica de la función glucocorticoidea de la corteza
suprarrenal humana**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Antonino Jara Albarrán

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD DE MADRID

Facultad de Medicina

7A 1281

Trabajo presentado para aspirar
al Grado de Doctor.

"EL ANALISIS FLUORIMETRICO DE LOS 11-OXICORTICOSTEROIDES EN PLASMA
(CORTISOL PLASMATICO) Y SU EMPLEO EN LA VALORACION CLINICA DE LA
FUNCION GLUCOCORTICOIDEA DE LA CORTEZA SUPRARRENAL HUMANA."

ANTONINO JARA ALBARRAN

DIRECTOR: PROF. D. ELOY LOPEZ GARCIA.



Madrid. Octubre 1970

A mis padres.

A mi esposa.

AGRADECIMIENTOS.

- A la Clínica Nuestra Señora de la Concepción "Fundación Jiménez Díaz", a su Fundador D. Carlos, y a su Director Prof. D. Eloy López García, por haber puesto a mi disposición todos sus medios para el logro de esta Tesis Doctoral.
- Al Dr. D. Francisco Vivanco Bergamin por su dirección y por toda clase de ayudas prestadas en su Laboratorio Hormonal.
- Al Dr. D. Francisco Ramos Duce por su inestimable cooperación en la realización de todo este trabajo.
- Al departamento de Endocrinología Clínica de la Fundación Jiménez Díaz: Dres. Rodríguez Miñón, Herrera Pombo y Arrieta Alvarez, por el ambiente de trabajo del que nació la idea de esta Tesis, y por su colaboración clínica en la selección de enfermos y desarrollo de las pruebas.
- Al Prof. D. Juan Manuel Palacios Mateos, por sus consejos sobre algunos aspectos del cortisol en plasma y por la colaboración en la aportación de enfermos.
- A todo el personal del Laboratorio de Hormonas del Dr. - Vivanco, por facilitar en todo lo posible mi trabajo.
- A los médicos, enfermeras y Hermanas de la Caridad que - tanta atención y ayuda han prestado para el buen desarrollo de las pruebas dinámicas.

- A mi esposa, que tanta comprensión ha mostrado durante muchos meses, por su ayuda en la realización de los cálculos estadísticos y por mecanografiar todo el texto y tablas de datos.

- A todo el personal y pacientes que de una u otra forma han colaborado en la realización de esta Tesis.

EL ANALISIS FLUORIMETRICO DE LOS 11-OXICORTICOSTEROIDES EN PLASMA

(CORTISOL PLASMATICO) Y SU EMPLEO EN LA VALORACION CLINICA DE LA

FUNCION GLUCOCORTICOIDEA DE LA CORTEZA SUPRARRENAL HUMANA

I.

INTRODUCCION

correspondientes a los diferentes procesos etiológicos y a la diversidad del grado de afectación glandular.

El empleo terapéutico de los esteroides es un hecho corriente en multitud de enfermedades reumáticas, hematológicas, alérgicas, inmunológicas, etc., que interfiere con el normal funcionamiento de las suprarrenales.

La práctica de la hipofisectomía quirúrgica, radioterápica o isotópica, en cánceres avanzados, en tumores hipofisarios y en otros procesos, influencia de modo diverso la homeostasis endocrina y en particular la función suprarrenal, cuyo grado de afectación es necesario conocer para mantener una vida activa y sana.

El estudio de la regulación de la secreción adrenocortical por la hipófisis, hipotálamo y diversos centros del S.N.C., es un problema actualmente lleno de puntos oscuros y problemas aun sin resolver.

Por último, el descubrimiento de síndromes neoplásicos con producción de ACTH ectópico ha aumentado nuestros conocimientos sobre la patología suprarrenal.

Para el conocimiento de todos esos procesos, es necesario valorar, no solo la sintomatología clínica de cada uno de ellos, sino también el grado de funcionamiento de la corteza suprarrenal.

A causa de las dificultades para medir las escasas concentraciones sanguíneas de las hormonas adrenales, al principio se estudiaban ciertos efectos biológicos capaces de informar sobre la función glucocorticoidea suprarrenal. Así, p. ej., la sensibilidad a la insulina, el cociente sodio/potasio en plasma, el comportamiento ante la sobrecarga de agua (Robinson, Power y Kepler) o frente a un régimen hiposódico y rico en potasio (Cutler, Power y Wilder). De las pruebas biológicas la más específica y sencilla era la propuesta por la escuela de Thorn, que medía el descenso del recuento de los eosinófilos sanguíneos después de la estimulación suprarrenal con corticotrofina.

Todas esas pruebas comenzaron a perder importancia a partir de 1950,

cuando Porter y Silber publican la reacción específica de la fenilhidrazina con los 17,21 dihidroxi-20-cetosteroides, de forma que poco después comenzaron a surgir diversas metodicas para medir los metabolitos del cortisol en plasma y orina.

Como los métodos para la medición de las hormonas en sangre eran muy complicados a causa de su escasa concentración, y teniendo en cuenta que el cortisol y sus metabolitos se eliminan casi exclusivamente por el riñón, adquirieron más preponderancia los que medían sus metabolitos eliminados por la orina, de forma que gracias a ellos se podía conocer la función suprarrenal en condiciones basales, tras el estímulo con ACTH exógeno (Laidlaw y Thorn, 1955) o endógeno (prueba de la metopirona de Liddle y col. 1958), o la respuesta a la supresión con dexametasona (Liddle, 1960).

Los métodos para la medición de los metabolitos urinarios del cortisol han dominado la práctica endocrinológica de los últimos 15 años. En general se utilizan dos clases de metodicas. Unas basadas en la reacción de Porter y Silber (1950) miden los 17,21-dihidroxi-20-cetosteroides, o sea fundamentalmente el cortisol, cortisona y sus tetrahidroderivados, a los que abreviadamente se les denomina 17-hidroxycorticoides (17-OHCS) o cromógenos de Porter Silber; representan aproximadamente el 40-50% de los metabolitos urinarios del cortisol (James y Landon, 1968). Otras metodicas basadas en la reacción de Norymberski mediante la oxidación con el acetato de bismuto previa eliminación de los 17-cetosteroides preexistentes, convierten todos los 17-hidroxycorticoides en 17-cetosteroides a los que miden a continuación por la clásica reacción de Zimmerman; de esa forma incluyen otros metabolitos como el cortol y cortolona que son 17-hidroxi pero por carecer del grupo cetónico C-20 no dan la reacción de Porter-Silber, pero también miden otros metabolitos como el pregnanetriol y 17-hidroxiprogesterona (M.R.C. 1963), no relacionados con el cortisol; estas metodicas basadas en la oxidación de Norymberski miden en condiciones normales el 90% de los metabolitos urinarios del cortisol (James y Landon, 1968), que entonces se denominan 17-esteroides cetogénicos; aparentemente son más ventajosas que la medición de los 17-OHCS urinarios -

(cromógenos de Porter-Silber), pero el hecho de incluir en la medición a otros metabolitos como el pregnanetriol y 17-hidroxiprogesterona puede dar falsos resultados elevados en situaciones especiales, como la hiperplasia suprarrenal congénita, que no se corresponden con una mayor producción de cortisol.

Pero estos métodos urinarios presentan inconvenientes grandes, aparte la escasa proporción con que miden los metabolitos urinarios del cortisol por la reacción de Porter-Silber, que es la más utilizada mundialmente. - Hace falta la recolección urinaria de 24 horas, lo que representa molestias para cualquier persona, mayormente teniendo en cuenta la necesidad de su conservación en nevera; ocasiona grandes dificultades en ciertas circunstancias como cuando se trata de niños, ancianos, pacientes mentales, o existen grandes o pequeñas diuresis, y lleva consigo una inseguridad sobre la exactitud de la recogida urinaria por la facilidad con que se pueden perder algunas emisiones de orina. Por otra parte, la orina es un vehículo muy común para la eliminación de sustancias no utilizables por el organismo; ello hace que se eliminen por el riñón gran cantidad de compuestos que pueden interferir con las reacciones colorimétricas, tales como algunos hipotensores, hipnóticos, neurolépticos, diuréticos, inhibidores de las monoaminooxidasas, digitálicos, morfina, piridium, vitamina C, vitamina B₂, piperidina.

Además, al medir los metabolitos urinarios, intervienen dos factores muy importantes independientes a grandes rasgos de la cuantía de la secreción del cortisol. Uno es el filtro renal, cuyas alteraciones repercuten sobre la eliminación de esos metabolitos. El otro es el metabolismo periférico del cortisol especialmente los cambios que sufre en el laboratorio hepático, que influenciarán de forma decisiva la cuantía y tipo de sus metabolitos, de forma que su cuantía urinaria no reflejará con fidelidad los niveles del cortisol plasmático que son los que realmente cuentan para el metabolismo tisular y para la situación general de hipo o eucorticoi~~ismo~~ismo. Es lo que sucede en las disfunciones hepáticas y tiroideas, y en la obesidad.

Por todas estas razones, y por ser un parámetro más directo en rela-

ción con la fuente de origen, interesaba mucho más medir directamente el cortisol en sangre humana. Ello era posible en los primeros años a base de métodos extremadamente engorrosos y complicados, que los hacían prácticamente inservibles en la clínica diaria. Pero en años siguientes fueron surgiendo procedimientos más sencillos pero igualmente eficaces que han ido desplazando lentamente a los métodos urinarios. Así, los métodos colorimétricos basados en la reacción de la fenilhidrazina, de Silber y Porter (1954), y el de Peterson, Karrer y Guerra (1957), que más o menos modificados han sido muy utilizados posteriormente por multitud de laboratorios; miden los 17-hidroxycorticoides plasmáticos, de los cuales un 90% es cortisol (Peterson y col. 1955). Pero también aparecieron métodos fluorimétricos sencillos como el de Van der Vies (1961), Mattingly (1962), Braunsberg y James (1962), De Moor y Steeno (1963) que miden los 11-oxicorticoides del plasma o sea el cortisol y corticosterona, pero - que en el hombre es fundamentalmente cortisol al contrario que en la rata. También algunos métodos isotópicos han simplificado sus métodicas - haciéndose más asequibles a los laboratorios clínicos, como p. ej. el de Murphy (1967) basado en la afinidad del cortisol por cierto tipo de proteínas.

Con cualquiera de los métodos citados para medir cortisol en plasma, se puede conocer el estado de la función suprarrenal en condiciones baseles o después de las pruebas de estimulación o supresión, igual que sucedía con los métodos urinarios. Pero además se puede conocer el ritmo circadiano del cortisol plasmático y el funcionamiento del eje S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenal, mediante otras pruebas diferentes de la metopirona, como son la hipoglucemia insulínica, la Lisina-Vasopresina y los pirógenos.

Las ventajas del conocimiento de la concentración plasmática del cortisol, la facilidad y simplicidad de los métodos, y las dificultades antes mencionadas inherentes a los métodos urinarios, han hecho que éstos se vayan relegando cada vez más, al mismo tiempo que se emplea con mayor frecuencia la medición del cortisol en plasma.

Y de los métodos plasmáticos, los que mayor éxito han tenido como - procedimientos de rutina, han sido los métodos fluorimétricos. Porque son más sensibles, requieren menos cantidad de plasma y apenas poseen interferencias medicamentosas, si se comparan con los métodos colorimétricos; y son más rápidos, menos engorrosos y menos costosos que los métodos isotópicos.

Todos estos hechos han motivado la realización de esta Tesis, cuyo motivo central es la determinación del cortisol en plasma por un método fluorimétrico semejante al de Mattingly (1962) pero con una modificación basada en la adición de hidroxilamina de Martin y Martin (1968).

El cortisol plasmático se ha medido en una serie de sujetos normales y patológicos clasificados en varios grupos.

La determinación analítica se ha realizado en condiciones basales, a la noche, y después de ciertas pruebas dinámicas con ACTH, dexametasona y Lisina-Vasopresina. También se han comparado los resultados en plasma con los obtenidos en orina, midiendo los 17-hidroxycorticoides en 24 horas.

Esta Tesis Doctoral, es el resultado de un trabajo personal que reune más de 1.100 determinaciones analíticas de cortisol plasmático, efectuadas a lo largo de los últimos tres años.

En la literatura médica española no existenhasta el presente publica ciones similares, y este trabajo pretende fundamentalmente dar a conocer en España los resultados obtenidos, así como las ventajas importantes de utilizar las mediciones en plasma en lugar de las habituales en orina.

Cuando se habla de cortisol plasmático, a lo largo de este trabajo, se incluye al cortisol libre o nativo, y al cortisol ligado a las protei nas (transcortina principalmente), como ocurre habitualmente en todas las publicaciones mundiales sobre este tema.



REVISION SOBRE LOS CONOCIMIENTOS ACTUALES

DEL METABOLISMO DEL CORTISOL

REVISION SOBRE LOS CONOCIMIENTOS ACTUALES

DEL METABOLISMO DEL CORTISOL

- A - Lugar de producción.
- B - Biosíntesis.
- C - Cuantía de secreción.
- D -- Transporte en la sangre.
- E - Nivel sanguíneo. Vida media. Ritmo circadiano.
- F - Regulación de la secreción del cortisol.
- G - Acción biológica del cortisol.
 - 1 - Sobre los hidratos de carbono
 - 2 - Proteínas
 - 3 - Grasa
 - 4 - Agua y electrolitos
 - 5 - Sistema eritropoyético
 - 6 - Músculo estriado
 - 7 - Sistema nervioso
 - 8 - Aparato digestivo
 - 9 - Sistema óseo
 - 10 - Sistema cardiovascular
 - 11 - Sistema cutáneo
 - 12 - Tejido conjuntivo
 - 13 - Efectos inmunológicos
 - 14 - Acción permisiva sobre diversos sistemas
- H - Catabolismo del cortisol
- I - Fisiopatología del cortisol en diversas situaciones normales y patológicas.
 - 1 - Feto
 - 2 - Recién nacido
 - 3 - Edad
 - 4 - Sexo
 - 5 - Embarazo
 - 6 - Stress

- 7 - Síndrome de Cushing
- 8 - Enfermedad de Addison
- 9 - Hipopituitarismo
- 10 - Hiperplasia suprarrenal congénita
- 11 - Tratamiento prolongado con corticoides
- 12 - Obesidad
- 13 - Hepatopatías crónicas
- 14 - Hipertiroidismo
- 15 - Hipotiroidismo
- 16 - Diabetes
- 17 - Feocromocitoma
- 18 - Acromegalia
- 19 - Otras situaciones: a) ayuno prolongado
 - b) caquexia
 - c) descanso prolongado en cama
 - d) alcoholismo

J - Pruebas dinámicas del cortisol en plasma.

- 1 - Estímulo con ACTH
- 2 - Supresión con Dexametasona
- 3 - Estímulos indirectos del cortisol a través del eje
SNC - Hipotálamo - Hipófisis.
 - a) metopirona
 - b) pirógenos
 - c) hipoglucemia
 - d) Lisina-8-Vasopresina
 - e) comentario a estas pruebas

REVISION SOBRE LOS CONOCIMIENTOS ACTUALES

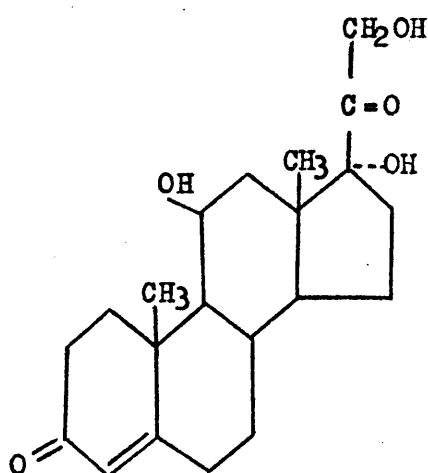
DEL METABOLISMO DEL CORTISOL

El cortisol, hidrocortisona o compuesto F de Kendall, es el esteroide suprarrenal más importante cuantitativa y funcionalmente hablando.

Su nombre químico completo es Δ^4 -pregнено-3,20 diona-11 β -17 α -21 triol, y su fórmula la siguiente:

GRAFICA II-I

HIDROCORTISONA O CORTISOL



La cortisona es su derivado cetónico en el C-11. En general hablar de cortisona o cortisol es sinónimo, ya que ambos son interconvertibles en el hígado. Solamente hay que tener en cuenta que en la vena adrenal no existe cortisona puesto que la sangre aun no ha pasado por el laboratorio hepático.

A. LUGAR DE PRODUCCION.

El cortisol junto con los demás glucocorticoides se sintetiza por las células de la capa fasciculada de las glándulas suprarrenales.

Las suprarrenales son un órgano par, derivado del mesodermo celómico (futura corteza) que ya aparece en la 4ª - 6ª semana de la vida intrauteri na, y a cuyo esbozo se unen células procedentes de la cresta genital, y - más adelante, de la cresta neural (futura médula). Su situación encima del polo superior de cada riñón les dá nombre. Pero no hay que olvidar que - hasta un 20% de los sujetos normales pueden presentar tejido suprarrenal -

accesorio en la región de la aorta lumbar, y arterias ilíacas internas, hígado, páncreas, vagina, escroto (Kozak y col. 1966), y en los testículos, como lo prueba la aparición de tumores testiculares productores de cortisol, algunos con síndrome de Cushing bien manifiesto (Hamwi y col. 1963; Engel y col. 1964; Besch y col. 1964) y otros casos de Cushing persistentes después de suprarrenalectomía total (Kozak y col. 1966).

En el feto durante los meses 3º y 4º, las suprarrenales son de mayor tamaño que los riñones, pero luego esa proporción se va invirtiendo de forma que en la persona adulta la proporción suprarrenal/riñón es $1/28$ (Forsham, 1968). Su peso en el adulto es de 4 a 14 gramos, siendo algo mayor en los varones.

A partir de los 4 años de edad se distinguen en la corteza suprarrenal tres zonas: por fuera la glomerulosa, en medio la fasciculada y más al interior la capa reticular. La glomerulosa tiene unos límites bien definidos que son menos claros entre la fasciculada y la reticular.

Corresponde a la zona fasciculada, la formación de los glucocorticoides y entre ellos el cortisol. Está constituida dicha zona por grupos de células orientadas radialmente, de aspecto más claro que las reticulares, con más contenido en colesterol y con vacuolas lipóideas más grandes que en la zona glomerulosa.

Las mitocondrias de la capa fasciculada tienen menos crestas interiores que en la zona glomerulosa, y bajo la acción del ACTH se alargan antes de aumentar su número. A ellas se les atribuye la degradación del cortisol, la acción enzimática 11- β -hidroxilasa y la formación de la pregnenolona (Grant, 1968), mientras que los microsomas portarían la 3- β -dehidrogenasa, y en la fracción soluble del citoplasma se hallan las 21 y 17 hidroxilasas.

En reposo resalta el aspecto vacuolar con gran contenido lípido. Cuando las células están en actividad, o a continuación de la inyección de ACTH, hay menos vacuolas, el aspecto es más compacto, y se puede comprobar deplección de lípidos, colesterol y ácido ascórbico (Moon, 1961).

La administración de cortisona o la hipofisectomía, conducen a una atrofia de las dos capas más internas de la corteza, mientras que no se

afecta la zona glomerulosa, por lo menos en un principio.

El ACTH exógeno, un stress prolongado e intenso, o una hiperfunción adrenal de origen hipofisario, conducen a una hiperplasia con deplección lípida de la zona fasciculada.

Aunque se ha hablado de cierta indiferenciación entre las zonas fasciculada y reticular, los estudios enzimáticos y de biosíntesis esteroidea utilizando homogeneizados tisulares procedentes de ambas capas, indican que la mayor parte del cortisol se sintetiza en la zona fasciculada, y que los andrógenos suprarrenales provienen en su mayoría de la zona reticular (Griffiths y col. 1963).

B. BIOSINTESIS.

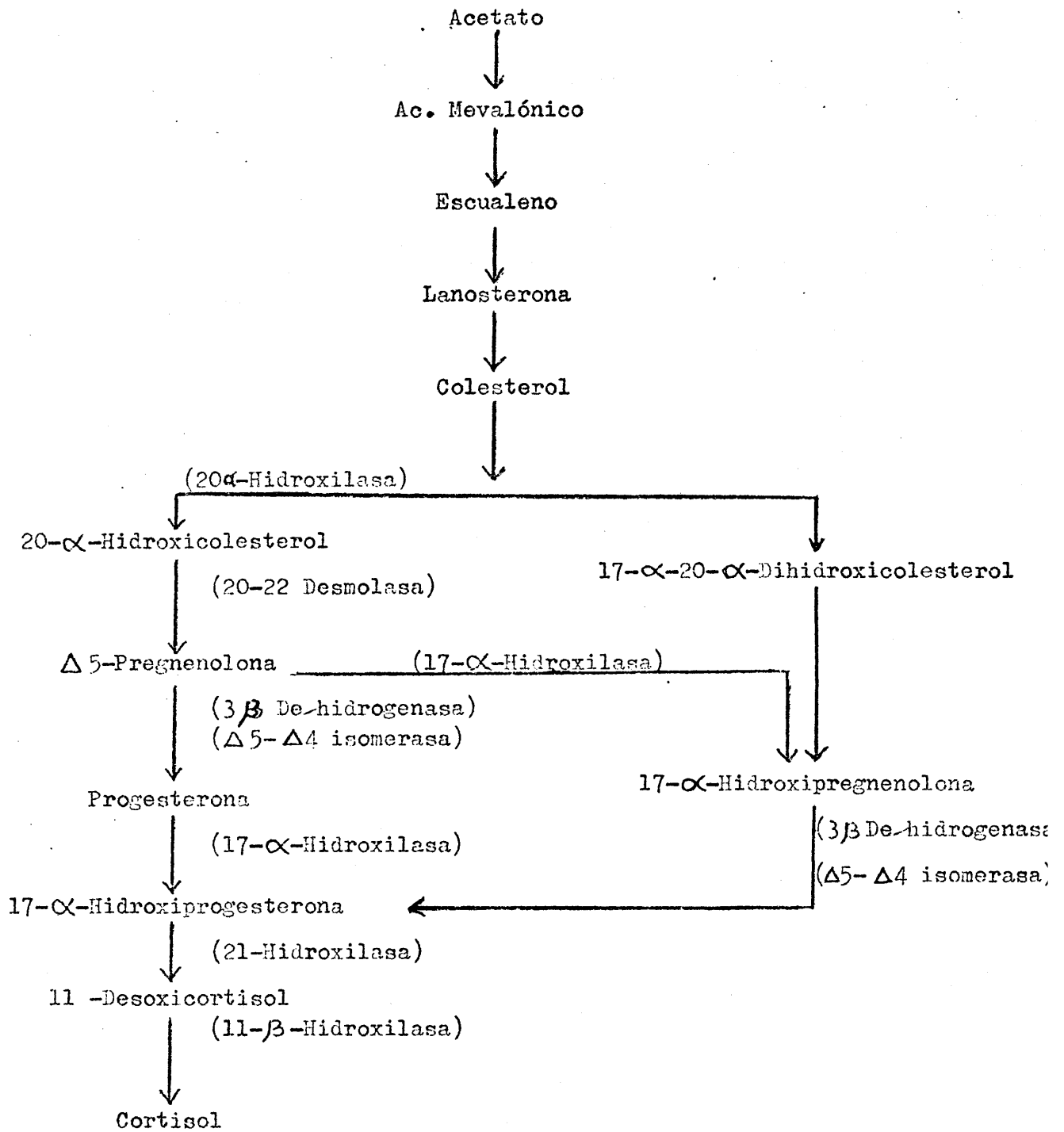
El cortisol es un esteroide de 21 C como los gluco y mineralocorticoides, e igual que todas las hormonas esteroideas deriva en último término del anillo del ciclopentanoperhidrofenantreno o su derivado metilado el esterano.

Su principal precursor es el colesterol de los alimentos, o de origen endógeno a partir del acetato. Después existen una serie de pasos intermedios antes de que finalmente suceda la hidroxilación en el C-11 con la consiguiente formación del cortisol. En la figura 11-2 están señalados los pasos conocidos con inclusión de las principales enzimas entre paréntesis.

El ACTH hipofisario estimula a nivel suprarrenal la síntesis de las enzimas que intervienen en las diversas reacciones y también aumenta la concentración del 3' - 5' adenosin monofosfato cíclico que influye favorablemente a través del NADP en el aporte energético necesario para las reacciones. En conjunto, el ACTH favorece la conversión del colesterol en progesterona pero no interviene en los pasos posteriores. Para ejercer su acción, el ACTH no parece penetrar en la célula adrenal, actuando a través de un receptor de la membrana para estimular la función del 3' - 5' AMP cíclico.

Simultáneamente a la formación del cortisol ocurre la síntesis de -

BIOSÍNTESIS DEL CORTISOL



de los mineralocorticoides (a partir de la progesterona) y de los andrógenos y estrógenos (desde la dehidroepiandrosterona y la 17- α -hidroxiprogesterona). En total, de la corteza adrenal se han aislado unos 50 esteroides, y la proporción de unos y otros depende de las diferencias en la concentración enzimática. Pero sólo una quinta parte de esos esteroides pasan a la sangre, pues los restantes son intermediarios intracelulares.

La secreción del cortisol no se realiza de forma continua a lo largo del día, sino intermitentemente, sumando un total de unas 6 horas de actividad y 18 horas de reposo al cabo del día (Hellman y col. 1970, a).

C. CUANTIA DE SECRECION.

De los esteroides suprarrenales, el cortisol es el que se produce en mayor cuantía (Nelson y Samuels, 1952; Bush y Sandberg, 1953), juntamente con la dehidroepiandrosterona, con gran diferencia sobre el resto, como se puede apreciar en el cuadro II-1 de Forsham (1968).

Los principales son, cortisol, cortisona, aldosterona y corticosterona (Lewis, 1957); pero la cortisona solo se detecta en la sangre periférica y no en la vena suprarrenal, lo que indica su origen periférico.

El estudio de la cuantía de secreción diaria del cortisol se realiza fácilmente por métodos isotópicos (Peterson y Wyngaarden, 1955; Cope y Black, 1958, a) con cortisol marcado (4-C¹⁴-Cortisol) que inyectado en sangre sufre las mismas vicisitudes que el cortisol endógeno, midiendo luego su dilución en sangre y la aparición de sus metabolitos en orina. Varía de 14 a 30 mg/día, y es algo mayor en los varones (20,9 mg/24 h.) que en las mujeres (17,4 mg/24 h.), aunque esa diferencia desaparece expresando los resultados en función de la superficie corporal, $11,3 \pm 1,6 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h.}$ (Migeon y col. 1963) o conforme al peso, $0,214 \pm 0,067 \text{ mg/kg/24h.}$ (Mlynaryk y col. 1962).

En general la media de la secreción diaria de cortisol oscila entre 13,5 y 21,3 mg/24 h. según diversos autores (Peterson y Wyngaarden, 1955; Cope y Black, 1958, a y b). Pero a pesar de que la medición de la secreción diaria del cortisol se realiza casi de rutina en algunos laboratorios, su validez y exactitud no está exenta de críticas, pues varía según las téc-

SECRECIÓN DIARIA (EN 24 H.) DE ESTEROIDES SUPRARRENALES

AISLADOS DE LA VENA ADRENAL EN EL HOMBRE ADULTO

<u>G r u p o</u>	<u>C o m p u e s t o</u>	<u>Secreción en 24 h.</u>
Glucocorticoides	Cortisol	15 - 30 mg
	Corticosterona	2 - 5 mg.
Mineralocorticoides	Aldosterona	50 -150 µg
	11-Desoxicorticosterona	Indicios
Andrógenos	Dehidroepiandrosterona	15 - 30 mg.
	Δ 4-Androstenediona	0 - 10 mg.
	11-β-Hidroxiandrostenediona	0 - 10 mg.
Progestágenos	Progesterona	0,4-0,8 mg.
	Pregnenolona	0,5-0,8 mg.
	17-Hidroxipregnenolona	0,2-0,4 mg.
Estrógenos	Estradiol	Indicios

nicas y según los metabolitos que se midan en orina (Lazarus, 1962; Fukushima y col. 1968; Fukushima y col. 1969).

D. TRANSPORTE EN LA SANGRE.

Los esteroides formados en las suprarrenales pasan como tales a la vena adrenal, pero solo un 10-15% del cortisol sanguíneo permanece auténticamente libre (nativo) dispuesto para las necesidades tisulares. El resto va unido a una α_2 -globulina denominada CBG ("corticosteroid-binding globulin") por Daughaday (1958) o transcortina por Slaunwhite y Sandberg (1959). La CBG solubiliza el cortisol, asegurando el mantenimiento de su nivel plasmático y evitando el paso al pool extravascular (Bradley y Waterhouse, 1966), su degradación por el hígado y la pérdida por filtración glomerular (Schedl y col. 1959). Es una proteína de peso molecular alrededor de 52.000 y porta una molécula de cortisol o cortisona, fuertemente unida. Su concentración plasmática es de 23 a 45 mg/litro tanto en varones como en mujeres (Daughaday y Mariz, 1961) y sus enlaces de unión se saturan cuando los niveles de cortisol suben por encima de 25-30 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de plasma (Daughaday y Mariz, 1961) por lo que entonces el exceso de cortisol se une débilmente a la albúmina y puede aparecer en el plasma un exceso de cortisol no ligado a las proteínas (libre). La administración de cortisona deprime la unión del cortisol a las proteínas.

Después de la estimulación con ACTH aumenta el cortisol en plasma (p. ej. 3 veces), pero proporcionalmente aumenta más el cortisol libre (p. ej. 7 veces), y entonces la albúmina puede llegar a transportar el 58% del total del cortisol ligado (Yates y Urghart, 1962; Beisel y col. 1964,b).

Al hablar de cortisol plasmático, se comprende en general al cortisol libre o nativo y al unido a las proteínas. El cortisol libre es el que auténticamente tiene actividad biológica a nivel tisular, pero se nutre del cortisol ligado a las proteínas, forma bajo la cual está protegido contra la degradación hepática y contra la filtración glomerular.

Además, y en proporción semejante al cortisol plasmático unido a las proteínas, en el plasma también se encuentran derivados cortisólicos con-

jugados con el ácido glucurónico o en menor grado al sulfato y fosfato, compuestos que son inactivos biológicamente y se pueden medir en sangre por métodos cromatográficos en papel (Bongiovanni y col. 1954; Cohn y Bondy, 1959). Pero este cortisol conjugado es muy soluble en el agua, no compite con el cortisol libre para unirse a la transcortina, y carece de toda acción biológica, por lo que no se incluye en la denominación habitual de cortisol en plasma.

Apenas existe CBG en los líquidos cefalorraquídeo y amniótico, por lo que el cortisol hallado en esos medios pertenece en su mayoría al cortisol libre. Así, p. ej. Uete y col. (1970) en el líquido cefalorraquídeo hallan $1,26 \pm 0,74 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, pero aumenta mucho a continuación de una infusión de cortisol. En la saliva la concentración del cortisol es de $4,1 \pm 1,6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. (Shannon y col. 1959) lo que indica que en gran parte estará unido a las proteínas.

La CBG se forma principalmente en el hígado y su concentración en plasma suele ir paralela a la albúmina (Doe y col. 1964), pero puede existir discordancia; p. ej., se ha descrito elevación de la CBG en un paciente con analbuminemia, lo que habla a favor de que la producción de ambas proteínas se efectúa por caminos diferentes.

Aumenta su producción con la administración de estrógenos, anovulatorios, y durante los últimos meses del embarazo. Ello lleva consigo un aumento de la concentración del cortisol plasmático unido a la transcortina, lo cual no es sinónimo de hipercorticismismo puesto que el cortisol libre, que es el que posee la acción biológica, permanece a un nivel normal.

La administración de estrógenos produce ya a los dos días un aumento apreciable del cortisol sanguíneo (Grant y col. 1965) llegando a cifras de $64 \mu\text{g}$ a los 30 días. No varía la concentración del cortisol libre (Burke, 1969), ni su eliminación por orina. Tampoco impide la respuesta al ACTH ni a la dexametasona ni altera el ritmo circadiano. Al aumentar la transcortina podría esperarse una disminución del cortisol libre por unión a ella, pero como no sucede así no es de extrañar que los estrógenos no sirvan para el tratamiento del síndrome de Cushing, aunque

en algún caso se haya visto que disminuye la producción diaria del cortisol. (Grant, Pavlatos y Forsham, 1965). Además los estrógenos aumentan el pool del cortisol intravascular, pero no el extravascular que es el más activo fisiológicamente (Bradley y Waterhouse, 1966).

Durante el embarazo, la transcortina se eleva ya en el 2º mes, alcanzando concentraciones de hasta 73 mg/l. en el 6º mes lunar. Paralelamente el cortisol plasmático va aumentando hasta 40 µg/100 ml. estabilizándose ambos hasta el final del embarazo (Doe y col. 1964).

En los últimos años se ha estudiado más detenidamente el cortisol libre durante el tratamiento con estrógenos y en el embarazo, observando que se eleva en ambas circunstancias, pero mientras que en el primer caso solo está elevado por la mañana, en el embarazo también se eleva a la noche, lo que explicaría las manifestaciones de hipercorticismo durante el mismo (Doe y col. 1960; Doe y col. 1969), pero que no son exageradas ni producen un síndrome de Cushing en parte porque se mantiene el ritmo circadiano y en parte porque las proporciones entre el cortisol ligado a la CBG y la albúmina, y el libre, se mantienen normales (Rosenthal y col. - 1969).

Los pacientes con carcinoma de próstata que toman 5 mg de dietilestilboestrol/día, presentan una subida de la CBG ya a las 48 horas, alcanzando una concentración de 92 mg/l al 7º día, cifra que se mantiene en meseta sin casi elevación, aunque se continúe la administración de estrógenos durante meses o años (Doe y col. 1964) e independientemente de la orquidectomía. Pero aunque no hayan sido tratados con estrógenos parece ser que tienen elevado el cortisol libre del plasma por la mañana y a la noche, aunque conservando el ritmo circadiano (Doe y col. 1969).

Que el cortisol unido a la transcortina carece de acción biológica ha sido demostrado experimentalmente en ratones por Slaunwhite y col. - (1962), viendo cómo el glucógeno hepático aumenta cuando se inyecta cortisol y no lo hace si las inyecciones son de transcortina o de transcortina más cortisol. También se inhibe el efecto del cortisol si previamente se inyecta transcortina al comienzo del experimento.

Por el contrario se puede tener disminuida la concentración plasmá-

tica de transcortina, como sucede en las disproteinemias de las hepatitis, cirrosis, nefrosis, síndromes de malabsorción intestinal, amiloidosis o - mieloma, y mantener una función glucocorticoidea normal, gracias a la invariabilidad del nivel del cortisol libre.

También con independencia de las hipo o disproteinemias, la capacidad de ligar el cortisol puede estar baja, como en 61 pacientes estudiados por De Moor y col. (1965, b), con síndromes de obesidad, hipertensión, diabetes etc.

Se han descrito varias generaciones de una misma familia con disminución congénita de transcortina, de transmisión autosómica dominante, que cursan con niveles bajos de cortisol plasmático total pero cortisol libre normal, por lo que poseen una buena función corticosuprarrenal (Doe y col. 1955; Lohrenz y col. 1967). En esos casos otras proteínas transportadoras como la TBG y la ceruloplasmina eran normales.

No varía la CBG en la hipo o hiperfunción tiroidea ni suprarrenal, ni en la acromegalia ni en el hipopituitarismo (Doe y col. 1964).

Una prueba más de la independencia de la función suprarrenal respecto de la concentración de la transcortina plasmática, es el caso de De - Moor y col. (1965, a) quienes publican un caso de síndrome de Cushing con cortisol elevado y ausencia de respuesta al ACTH (tenía una adenomatosis múltiple de la suprarrenal extirpada) que presentaba una disminución de la capacidad plasmática para ligar cortisol con ausencia de respuesta a los estrógenos endógenos (embarazo) y exógenos.

El cortisol, una vez que llega a la membrana celular, la atraviesa y en el citoplasma se encuentra combinado con una glicoproteína de peso molecular semejante (4 S) a la transcortina. También pasa al núcleo uniéndose a una proteína específica de la cromatina antes de ejercer su acción sobre la transcripción del DNA, sin que se conozca si el cortisol se transforma o no tras su unión con la cromatina (Beato del Rosal, 1970).

E. NIVEL SANGUINEO. VIDA MEDIA. RITMO CIRCADIANO.

La concentración plasmática del cortisol varía ampliamente en los sujetos normales desde 8 a 23 $\mu\text{g}/100 \text{ ml.}$, con una media de 15 μg si la toma de sangre se efectúa a las 8-9 h. de la mañana. Para un mismo individuo - existen notables variaciones de un día a otro (Bliss y col. 1953).

En esa denominación de cortisol en plasma, se incluyen como se decía líneas atrás, al cortisol libre o nativo tal como es segregado por la suprarrenales, y al cortisol unido a las proteínas.

Su vida media, estudiada con cortisol marcado, es de unos 90 minutos, pero está aumentada en las disfunciones hepáticas e hipotiroidismo, y disminuida en el hipertiroidismo (Peterson y col. 1955), y a veces en la obesidad (Migeon y col. 1963). No varía en la insuficiencia suprarrenal primaria ni secundaria, ni en los tratamientos prolongados con corticoides.

A lo largo del día, la concentración plasmática del cortisol va disminuyendo paulatinamente, de forma que a las 4 de la tarde ha descendido un 50% y alcanza el nivel mínimo alrededor de las 12 de la noche, aproximadamente $1/3$ de la concentración matutina. A este fenómeno se denomina - variación diurna, ritmo circadiano o nictameral del cortisol plasmático.

En esta variación diurna del cortisol plasmático, primeramente observada por Bliss y col. en 1953, luego por Doe y col. 1956 y Migeon y col. en 1956, (a) participan tanto el cortisol libre como el ligado a las proteínas (Beisel y col. 1964 (b); Doe y col. 1969; Burke y Roulet, 1970).

No depende de factores periféricos puesto que la vida media del cortisol no varía a lo largo del día (Perkoff y col. 1959).

El origen de esas variaciones diurnas está relacionado con los ciclos de división mitótica de las células adrenales (Mühlemann y col. 1955; - Halberg, Peterson y Silber, 1959). Pero parece explicarse mejor por la actividad secretoria del ACTH hipofisario que posee un ritmo semejante y adelantado en unas 2 horas al del cortisol plasmático (Ney y col. 1963), el cual a su vez estaría influenciado por el sistema nervioso central que funciona de un modo rítmico, pero no constante, como se puede comprobar muy bien en el E.E.G. Con una infusión constante aunque pequeña de ACTH se -

consigue hacer desaparecer el ritmo circadiano del cortisol (Nugent y col. 1960). Pero es independiente del catabolismo periférico del cortisol (Yates y Urquhart, 1962), por eso no se altera en la tirototoxicosis ni en la cirrosis hepática.

El ritmo circadiano de secreción del cortisol, se puede comprobar de un modo menos fidedigno en la eliminación de los 17-hidroxicorticoides por la orina, lo que sucede con cierto retraso respecto de los valores en sangre. Tomando tres muestras de 8 horas cada una, a partir de las 7 de la mañana, se encuentran más 17-OHCS en las primeras ocho horas, menos en las segundas y una cantidad intermedia en la tercera fracción.

El ritmo circadiano del cortisol plasmático es independiente de la visión puesto que lo conservan los ciegos (Migeon y col. 1956, a) y también hasta cierto punto lo es del sueño, puesto que no se altera en los trabajadores nocturnos. Pero si a personas normales se les hace dormir de día y realizar su actividad de noche, el máximo del cortisol plasmático se invierte y sucede poco antes de despertarse, p. ej. a las 4 de la tarde (Perkoff y col. 1959). Parece, pues que guarda relación con el ritmo actividad (vigilia), descanso (sueño), y así, los animales nocturnos tienen la concentración plasmática máxima al anochecer (Yates y Urquhart, 1962). Si la inversión de la relación sueño-vigilia en el hombre dura menos de una semana no se altera el ritmo circadiano (Orth y col. 1967).

Tampoco se afecta en diversas enfermedades, siempre que no se altere la conciencia o el sueño (Perkoff y col. 1959), ni en las enfermedades crónicas (Sholiton y col. 1961). Pero puede desaparecer en ciertos tumores cerebrales, en los estados de inconsciencia (Eik-Nes y Clark, 1958), en el cáncer de pulmón (Kawai y col. 1969), por la morfina, en los cánceres avanzados y enfermedades agudas (Sholiton y col. 1961), y en la enfermedad y síndrome de Cushing. También se altera en los cambios de meridiano, contribuyendo en el desasosiego y fatiga de los que viajan de este a oeste y viceversa. Pero no se altera viajando de norte a sur, o de sur a norte.

En las enfermedades cerebrales de tipo focal, la alteración del ritmo circadiano del cortisol ocurre con más frecuencia si la localización es en el lóbulo temporal, pretectum, hipotálamo o hipófisis (Krieger y Krieger,

1966). Pero no es una norma general para los adenomas cromófobos hipofisarios, (Furst, 1966). Puede alterarse en las hemorragias subaracnoideas, - como expresión de una lesión o sufrimiento hipotalámico (Jenkins y col. - 1969).

También se puede alterar el ritmo nictameral con atropina o barbitúricos (Krieger y Krieger, 1967), en los adictos a la heroína (Cushman y col. 1970) y en los tratamientos con hidantoinas (Asfeldt y Buhl, 1969).

La dexanfetamina evita la caída nocturna del cortisol plasmático, y el clordiazepóxido la exagera (Butler y col. 1968).

En los esquizofrénicos puede estar exagerado el ritmo circadiano, y en las depresiones algo alterado por elevación de los niveles nocturnos - (Brooksbank y Cooper, 1967; Conroy y col. 1968; y Carroll y col. 1968).

En el Cushing desaparece el ritmo del cortisol plasmático, manteniéndose a niveles altos constantes todo el día, especialmente notable si se compara con la caída nocturna normal (Eik-Nes y col. 1955; Doe y col. 1960, a) podría ser una explicación patogénica del síndrome de Cushing, causada por secreción continua de ACTH aunque no esté elevado en plasma (Nugent y col. 1960).

En la hipofunción suprarrenal secundaria también desaparece el ritmo circadiano, pero con valores bajos.

La elevación del cortisol por sí sola, no hace desaparecer el ritmo circadiano, como p. ej. en el embarazo o en la terapéutica con estrógenos.

En los niños hasta los tres años de edad puede no haber ritmo circadiano (Franks, 1967), pero luego se establece durante toda la vida y no se altera por la ancianidad (Silverberg y col. 1968).

En los pacientes con hipertensión vasculo-renal parece ser frecuente la alteración del ritmo circadiano del cortisol plasmático, quizá en relación con un posible estímulo de la capa fasciculada de las suprarrenales por la angiotensina (Cade y col. 1967).

Al parecer las variaciones del cortisol plasmático no suceden de forma paulatina, sino con subidas y bajadas bruscas, explicables porque el cortisol se segrega intermitentemente por la corteza suprarrenal en los -

sujetos normales (Hellman y col. 1970, a) y también en el Cushing por hiperplasia suprarrenal (Hellman y col. 1970, b). Ello explica en parte las variaciones que se pueden apreciar en días diferentes a la misma hora.

F. REGULACION DE LA SECRECION DEL CORTISOL

A la corteza suprarrenal no llegan fibras nerviosas secretoras que puedan influir en su función, y sin embargo la secreción del cortisol está regulada en último extremo por el Sistema Nervioso Central.

La secreción corticosuprarrenal está fundamentalmente regulada por los niveles de ACTH en plasma que a su vez dependen de la concentración plasmática del cortisol o cortisona. Ahora bien, estas relaciones no son directas entre ambas hormonas, sino mediatizadas por el hipotálamo. Si aumenta el nivel plasmático del cortisol, los centros hipotalámicos disminuyen la secreción del factor liberador de corticotropina (CRF o "corticotropin releasing factor") pasa menos ACTH al plasma y disminuye la producción adrenal de cortisol.

Si el nivel plasmático del cortisol desciende, p. ej. en el transcurso del día conforme al ritmo circadiano, o por su consumo a nivel tisular, se estimula la secreción del CRF y éste a su vez favorece la salida hipofisaria del ACTH.

Es un sistema de contrarregulación o servomecanismo.

Los centros hipotalámicos secretores del CRF o CRH (H = Hormona) se localizan en la región tuberoinfundibular y de la eminencia media, pero en general su ubicación es bastante difusa en el hipotálamo (Mess y Martini, 1968).

Esos centros pueden recibir estímulos nerviosos a través del sistema límbico, del núcleo amigdalario, del hipocampo, del cerebro medio o desde el exterior a través de la corteza cerebral. De esa forma una situación de stress endógena o exógena favorece la secreción de CRF, y éste la salida del ACTH, que a su vez estimula la secreción corticosuprarrenal.

Junto al sistema de contrarregulación cortisol-hipotálamo, denominado

servomecanismo o "feedback" largo, existe otro servomecanismo o "feedback" denominado corto porque está constituido solamente por el ACTH hipofisario y el CRF ó CRH hipotalámico sin intervención del cortisol plasmático (Mess y Martini, 1968; Motta y col. 1969).

Ambos sistemas de servomecanismo se pueden observar en la figura II-3 al final de este apartado, a continuación de las pruebas dinámicas.

Al CRF se le considera actualmente una auténtica hormona, y por eso se le denomina también CRH. Ha sido aislado en algunos animales pero no en el hombre. La vasopresina actúa como un CRH e incluso se la encuentra aumentada en plasma en los casos de insuficiencia suprarrenal, disminuyendo su concentración si se administran glucocorticoides (Ahmed y col. 1967), pero no parece ser el auténtico CRH o al menos el único, pues la función suprarrenal no se altera en ratas con diabetes insípida con incapacidad genética para la síntesis de vasopresina, ni en las lesiones hipotalámicas que se acompañan de diabetes insípida (Mess y Martini, 1968; Cushman, 1968, b.).

Los estímulos externos, las operaciones, la fiebre y la hipoglucemia espontáneas o provocadas, etc., son formas de stress que a través de diferentes vías nerviosas actúan sobre el hipotálamo liberando CRF que aumenta las concentraciones plasmáticas de ACTH y del cortisol en última instancia.

La morfina, clorpromazina y seguramente otras drogas, inhiben la secreción del CRH.

La relación del SNC con la producción de cortisol por las suprarrenales también se revela por la forma discontinua e intermitente en que es segregado. Así durante la noche los momentos en que la corteza segrega cortisol coinciden con movimientos oculares rápidos (Hellman y col. 1970a).

G. ACCION BIOLOGICA DEL CORTISOL.

Las funciones que el cortisol o la cortisona desempeña en el organismo son múltiples y de gran importancia, por lo que las reconsideraremos individualmente.

1.- Sobre los hidratos de carbono

El cortisol y cortisona, son los principales glucocorticoides, nombre que las viene de su acción primordial: favorecer la neoglucogénesis. El hígado aumenta sus depósitos de glucógeno a expensas de la conversión de las proteínas en glucosa, pero también en parte por la inhibición del catabolismo del piruvato que es resintetizado a glucosa (Fajans, 1961).

Puede aparecer incluso una diabetes corticoidea, que se debe más al aumento de la gluconeogénesis que al antagonismo periférico de la acción insulínica, también ejercido por el cortisol.

Por el contrario, en el déficit de cortisol son frecuentes las manifestaciones hipoglucémicas si las reservas del glucógeno hepático están ausentes.

2.- Proteínas.

El efecto gluconeogénico del cortisol se efectúa a expensas de la degradación proteica acelerada ejercida a nivel celular favoreciendo la formación de enzimas específicas para la deaminación y transaminación de los aminoácidos.

El resultado es un efecto catabólico sobre el metabolismo de las proteínas, con resultados sobre todos los órganos, aparatos y sistemas del organismo: matriz ósea insuficiente, atrofia muscular, déficit proteico - vascular con fragilidad vascular, pobreza en fibras de la piel, etc.

Resultado final de esa acción catabólica proteica, es el aumento del nitrógeno urinario y de la aminoaciduria.

3.- Grasa.

Produce una redistribución centrípeta de la grasa de aspecto rizomélico, en el tronco, dorso del cuello y cara, como se observa en el síndrome de Cushing.

En conjunto aumenta el total de la grasa corporal a expensas de las proteínas, produciéndose hiperlipemia e hipercolesterolemia.

A grandes dosis los corticoides pueden producir una hiperlipemia por hipertrigliceridemia causada por una disminución de la asimilación grasa secundaria al déficit insulínico que se produce por agotamiento insular reactivo al sobreestímulo insulínico que ocasiona la neoglucogénesis corticoidea (Bagdade y col. 1970).

4.- Agua y electrolitos.

El cortisol y la cortisona retienen sodio como los mineralocorticoides y aunque su actividad en ese sentido es unas 500 veces menor que la aldosterona, el hecho de ser su secreción diaria mucho mayor que la aldosterona, hace que el efecto de retención de sodio equivalga a un tercio diario del realizado por la aldosterona.

Con ello mantiene el volumen del líquido extracelular, evita el paso del agua al territorio intracelular, y favorece el filtrado glomerular y la diuresis hídrica. En esta última acción colabora su antagonismo para la acción tubular de la vasopresina, que también se degrada con más facilidad por el hígado en presencia del cortisol. El aumento de la diuresis parece ser que también se puede explicar por una inhibición de la secreción hipotalámica de vasopresina (Ahmed y col. 1967).

Al mismo tiempo que favorece la retención del sodio, facilita la excreción del potasio por el túbulo renal. Por ello en dosis grandes puede producir una alcalosis hipopotasémica con astenia, adinamia, e incluso parálisis flácida ascendente.

De los derivados sintéticos con mayor actividad sobre la retención de sodio, es la 9- α - fluorhidrocortisona la que supera a todos, ya que es 3 veces más activa que la aldosterona, y al mismo tiempo 12 veces más antiinflamatoria que el cortisol (Di Raimondo y Forsham, 1958).

5.- Sistema eritropoyético.

El cortisol interfiere la síntesis de DNA y del RNA mensajero en el tejido linfóide, ocasionando una reducción de la masa total del mismo y del número de linfocitos circulantes (linfopenia). Esta actividad es hasta cierto punto regulable por el mismo linfocito, especialmente por los

linfocitos inmaduros que son capaces de transformar el cortisol en cortisona, la cual carece de esa propiedad linfolítica (Berliner y Dougherty, 1960).

Favorece la involución tímica.

También produce eosinopenia por secuestro de los eosinófilos en el bazo y pulmones. Parecido ocurre con los basófilos.

Por el contrario, estimula la producción de neutrófilos, eritrocitos, reticulocitos y plaquetas, y favorece la coagulación de la sangre. Pero no influye sobre la fagocitosis.

También se ha dicho que inhibe la fagocitosis de las células reticulares para muchos compuestos (Dougherty y col. 1961).

6.- Músculo estriado.

El exceso de cortisol provoca una pérdida proteica de los músculos, junto con edema y fibrosis. Efecto comprensible teniendo en cuenta su acción sobre la neoglucogénesis y el catabolismo proteico.

Por el contrario, el déficit de cortisol provoca una debilidad muscular inexplicable, y que no se mejora con glucosa, sodio o DOC.

7.- Sistema nervioso.

El cortisol provoca una disminución del umbral de excitación eléctrica del S.N.C. y favorece la aparición de crisis epilépticas. Por el contrario, en la insuficiencia suprarrenal se enlentecen las descargas eléctricas del electroencefalograma.

Aunque los trastornos psíquicos son frecuentes, tanto con el exceso como con el defecto de cortisol, en el síndrome de Cushing aparecen con más facilidad psicopatías de importancia del tipo de las psicosis esquizofrénicas además de depresiones de mayor o menor grado y trastornos disfóricos y de la conducta (Trethowan y Cobb, 1952; Starr, 1952).

Sobre los nervios periféricos, el exceso de cortisol puede provocar una parálisis flácida ascendente de origen hipokalémico.

8.- Aparato digestivo.

Es un hecho indiscutible la predisposición a la úlcera péptica durante el tratamiento con corticoides, ya sea por vía oral como parenteral. - Se debe a que el cortisol aumenta la acidez gástrica y la producción de pepsina, al mismo tiempo que el moco se hace menos espeso.

Los anticolinérgicos son capaces de evitar todos esos cambios.

9.- Sistema óseo.

El cortisol interrumpe el crecimiento, como se observa frecuentemente en los niños asmáticos, con artritis u otra enfermedad que necesite terapia corticoidea. Se debe a que por una parte inhibe la secreción de hormona del crecimiento, además impide el crecimiento del cartílago epifisario, la síntesis de la matriz osea, y por si fuera poco, aun afecta negativamente casi todas las fases del metabolismo del calcio: disminuye la absorción intestinal del calcio, disminuye su depósito en los huesos y aumenta la pérdida renal.

10.- Sistema cardiovascular.

Ya se ha mencionado anteriormente el mantenimiento del volumen sanguíneo a través de la retención de sodio.

Contribuye de forma muy importante en el mantenimiento de la presión sanguínea sensibilizando las arteriolas a la acción presora de la norepinefrina y demás drogas hipertensoras. Es una acción que debe recordarse - en algunas fases y formas del shock.

También favorecen la aterosclerosis a causa de su tendencia a la - hiperlipemia e hipercolesterolemia.

11.- Sistema cutáneo.

El cortisol favorece el crecimiento del cabello y del vello corporal especialmente del axilar.

Afina y adelgaza la piel que se distiende con facilidad dejando ver

a su través los vasos subcutáneos llenos de sangre.

12.- Tejido conjuntivo.

Posee un claro efecto antiinflamatorio, en dosis terapéuticas, disminuyendo la hiperemia, la exudación, la migración celular y la producción de histamina (Di Raimondo y Forsham, 1958). Por eso mismo retarda la cicatrización inhibiendo la formación de fibroblastos.

Estos efectos parecen estar en relación con el metabolismo del cortisol por las fibroblastos, y quizá con la transformación de la cortisona - en cortisol (Berliner y Dougherty, 1960).

13.- Efectos inmunológicos.

En dosis farmacológicas inhibe las reacciones de hipersensibilidad, al parecer interponiendo una capa protectora alrededor de la superficie - celular. También impide la síntesis de histamina, aunque no antagoniza su acción, y estabiliza las membranas de los lisosomas impidiendo la descarga de su contenido en el interior del citoplasma.

También en dosis elevadas reduce la producción y circulación de anticuerpos a través de su efecto linfopénico. Por ello mismo disminuye la resistencia a las infecciones.

14.- Acción permisiva sobre diversos sistemas.

Consiste en la necesidad de pequeñas dosis de glucocorticoides para que puedan desarrollarse ciertas acciones que no son efecto de los corticoides, los cuales actúan indirectamente a través de pasos previos al efecto final (Ingle, 1954).

Así, el cortisol es necesario para que la epinefrina movilice la grasa o produzca glucogenolisis hepática. Lo mismo para la glucogenolisis - producida por el glucagón en el hígado. Recuérdese la sensibilización de las arteriolas a la acción de los agentes presores.

Un ejemplo típico es la falta de la respuesta hiperglucémica al trauma en la rata adrenalectomizada, porque no existe depósito de glucógeno - hepático, cosa que se puede subsanar con terapia corticoidea sustitutiva

o con una buena alimentación. Los corticoides "permiten" la respuesta - hiperglucémica al trauma (Engel y Fredericks, 1957).

También parece demostrado que la concentración del cortisol intraadrenal influye en la síntesis de epinefrina a través del enzima fenileta_nolamina-N-metil-transferasa (Wurtman, 1966).

H. CATABOLISMO DEL CORTISOL.

Normalmente la vida media del cortisol es de unos 90 minutos, tiempo que se puede influenciar por diversas circunstancias.

Después de ejercer sus múltiples funciones biológicas, el cortisol - como tal o degradado a diversos compuestos es eliminado fundamentalmente con la orina, y en mucha menor cuantía con la bilis y heces (Peterson y col. 1955; Migeon y col. 1956, b). El círculo entero-hepático es mínimo - en el hombre pues sólo pasa a la bilis el 4% de la hidrocortisona inyectada, eliminándose por las heces tan solo un 3% (Peterson y col. 1955). La hidrocortisona se absorbe muy bien en el intestino, sin destruirse por los jugos gástricos ni intestinal, pero sí se destruye en las heces.

Cortisol y cortisona son libremente intercambiables en el hígado por acción enzimática. Ambos sufren los mismos cambios catabólicos, sin que se destruya el anillo esteroideo.

Los fibroblastos, los linfocitos y las células reticuloendoteliales metabolizan pequeñas cantidades de cortisol (Berliner y Dougherty, 1960; Dougherty y col. 1961), cosa que también parece ocurrir con los eritrocitos (Wu y Mason, 1958; Kornel y col. 1970). Y parecido debe ocurrir con muchos otros tejidos, cuyas células pueden ser capaces de realizar una "biotransformación" de la molécula esteroidea original, convirtiéndola - en otra de propiedades diferentes (Dougherty y col. 1961).

Pero el principal lugar del metabolismo del cortisol son las vísceras, especialmente el hígado (Migeon y col. 1956 (b)), a pesar de que - Murphy y West (1964), den más valor al metabolismo extrahepático; un animal eviscerado es incapaz de producir tetrahydroderivados. Durante el -

stress operatorio se puede demostrar una disminución del cortisol plasmático a su paso por el hígado, correspondiente a una captación hepática de 22 a 112 $\mu\text{g}/\text{min}$. (Engell y col. 1961).

El 90 - 95% del cortisol se elimina por orina en forma de 17-hidroxicorticoides, y solo un 5 - 10% se degrada en forma de 11-hidrox-17-cetosteroides (11- β -hidroxiandrosterona y 11-ceto-etiocolanolona).

Para la formación de los 17-hidroxycorticoides urinarios, primero se reduce el doble enlace entre C-4 y C-5, convirtiéndose en dihidroderivados del cortisol y cortisona (DHF y DHE), luego el grupo cetónico del C-3 se convierte en α -hidroxilo y surgen los tetrahidroderivados (THF y THE), - que como tales o hidroxilados en el C-20 (β -cortol y β -cortolona) se unen por el 3- α -hidroxilo con el ácido glucurónico principalmente y en mucha menor cuantía con el sulfato y fosfato. Sólo una pequeñísima fracción del cortisol y cortisona puede ser glucuronizada directamente sin perder la estructura cetónica del C-3 ni el doble enlace entre C-4 y C-5,, apareciendo en total en orina unos 90 $\mu\text{g}/24$ h. (Brouillet y Mattox, 1966).

La primera reacción, cortisol a DHF, es irreversible. El paso de DHF a THF es reversible en algunos tejidos, pero como nada más formarse es conjugado y eliminado rápidamente, en la práctica es tan irreversible como la anterior.

El ACTH no sólo estimula la secreción adrenal del cortisol y corticosterona, sino que también inhibe su conjugación por el hígado prolongando su vida (Berliner y Dougherty, 1960).

Todos estos metabolitos representan aproximadamente la mitad de los 17-hidroxycorticoides plasmáticos (Bongiovanni y col. 1954), pero son inactivos biológicamente. Solamente los dihidro y tetrahidroderivados pueden competir, aunque muy débilmente, con el cortisol libre, por los sitios de unión a la transcortina. Pero aparte de esa menor apetencia su concentración plasmática es muy exigua comparada con la del cortisol.

Son perfectamente solubles en agua, filtrándose por el glomérulo renal y eliminándose por la orina sin ninguna dificultad, siendo su aclaramiento similar al de creatinina.

El cortisol unido a las proteínas, al llegar al glomérulo renal no lo atraviesa, permaneciendo en el plasma. Por el contrario, el cortisol libre se filtra perfectamente por el glomérulo renal (Schedl y col. 1959), pero posteriormente es reabsorvido pasivamente en el túbulo en un 80-90%, de forma que al cabo del día solo se elimina la pequeñísima cantidad de 86 µg sin llegar nunca a los 200 µg (Cope y Black, 1958; Gantt y col. 1964) lo que representa el 1% ó menos de la secreción diaria de las suprarrenales. Mattingly y col. (1964), hallan valores algo más altos con una media de - 178 µg en mujeres y 229 µg/24 h. en hombres. El cortisol libre eliminado por la orina aumenta en relación lineal conforme aumenta la concentración plasmática del mismo (Beisel y col. 1964, a) lo que explica que en el síndrome de Cushing al saturarse los enlaces de unión de la transcortina, - aumenten los niveles del cortisol libre y su eliminación urinaria sea 2 - 10 veces lo normal (Cope y Black, 1959; Beisel y col. 1964, a; Mattingly y Tyler, 1967).

En estos últimos años también se ha aislado de la orina el 6- β -hidroxicortisol en los recién nacidos (Ulstrom y col. 1960) y embarazadas. Se ha visto que aumenta con la administración de estrógenos y anovulatorios, y en las enfermedades hepáticas. Normalmente su eliminación urinaria en - 24 h. es de 300 µg en los varones y 400 µg en las mujeres, también puede aumentar su eliminación en los casos de hiperfunción suprarrenal (Touchstone y Blakemore, 1961).

En la tabla II-2, se puede observar en esquema, los diferentes pasos metabólicos del cortisol desde su secreción a su eliminación urinaria pasando por el plasma.

I. FISIOPATOLOGIA DEL CORTISOL EN DIVERSAS SITUACIONES NORMALES Y PATOLÓGICAS.

1.- Feto.

La corteza adrenal comienza su aparición entre la 4ª y 6ª semana de la vida intrauterina, y para el 3º, 4º mes las suprarrenales (corteza y

TABLA II - 2
=====

M E T A B O L I S M O D E L C O R T I S O L

<u>Secreción en 24 h.</u>	<u>Concentración en plasma (Basal)</u>	<u>Metabolitos en orina de 24 h.</u>
De 15 a 30 mg.	Cortisol libre 0,5 a 2,5 µg/100 ml.	<u>17-OHCS (3,1 ± 1,1mg/m²)</u>
- 11,3 ± 1,6mg/m ²		THE.5mg
	Cortisol ligado a las proteínas: 14 ± 5µg/100 ml.	THF.3mg
- 0,214 ± 0,067mg/kg.		THcortol3mg
- - - -	Cortisol conjugado 12,4 µg/100 ml.	TH cortolona3mg
Varones 20,9mg/24 h.		Cortisol libre . . .86 µg
Mujeres 17,4mg/24h.	Dihidroocortisol:indicios	<u>11- OH</u>
	Tetrahidroocortisol:indicios	11-Hidroxi-17-cetosteroid 1 mg.
	11-Desoxicortisol: < 2µg/100ml.	<u>6-OH</u>
		6-Hidroxicortisol 350 µg

médula) han alcanzado un tamaño superior al de los riñones, y aun son como un tercio de ellos en el momento del nacimiento.

Ese crecimiento excepcional es fundamentalmente a expensas de la zona fetal o zona X, que integra el 80% de las células adrenales en el momento del nacimiento, mientras que 3 meses después su peso disminuye a la mitad y todas las células son de tipo adulto. El restante 20% está constituido por la zona fascicular delgada, y la glomerular muy poco desarrollada.

El ACTH no pasa de la madre a la sangre fetal, lo cual quiere decir - que es el propio ACTH fetal el que estimula sus suprarrenales, y si no hay hipófisis fetal el desarrollo adrenal se detiene en la 20ª semana, como sucede en los fetos anencéfalos o en las madres con tratamiento corticoideo.

A partir de la 10ª semana, en las suprarrenales se encuentran todas las enzimas necesarias para la síntesis de los diversos tipos de esteroides, incluidos el cortisol, pero se forman proporcionalmente más 17-cetosteroides, quizá debido a una deficiencia parcial en 3- β -dehidrogenasa, lo que origina una menor síntesis de progesterona (precursora de los glucocorticoides) y mayor de pregnenolona (precursora de andrógenos, - progestágenos y estrógenos).

Esa diferencia enzimática tiene una finalidad, pues proporciona al feto más esteroides anabólicos con detrimento de los catabólicos (glucocorticoides).

2.- Recién nacido.

Con el nacimiento decae la secreción de ACTH hipofisario.

La zona fetal de la corteza disminuye progresivamente y tres meses - más tarde todas las células de tipo fetal han sido sustituidas por células de tipo adulto.

Aunque el cortisol atraviesa la barrera placentaria, en el momento del nacimiento la concentración plasmática del cortisol es de 2 a 5 veces mayor en la sangre materna que en la del cordón umbilical (Migeon y col.

1956, c) al parecer en relación con la capacidad ligadora de la CBG materna (Aarskog, 1965).

Durante la primera semana, se recupera la actividad enzimática normal de la 3- β -dehidrogenasa hidroxiesteroidea con lo que aumenta la producción de glucocorticoides. Esa recuperación enzimática es gradual y el relativo déficit de cortisol se compensa por su escasa degradación, que en parte es debido a la escasa participación del sistema de conjugación glucurónica en el hígado. Todo ello conduce a una escasa concentración del cortisol en plasma (Klein y col. 1954), y a una escasa eliminación de 17-hidroxicorticoides urinarios.

Simultáneamente los 17-cetosteroides, altos al nacer, disminuyen a lo largo de la primera semana y luego se mantienen bajos hasta la pubertad.

En los primeros días se produce más cortisona que cortisol, y todavía persisten metabolitos precursores en cantidad superior al adulto, que pueden elevar falsamente el supuesto cortisol del plasma (Iturzaeta y col. - 1970).

En la orina, y a falta de los sistemas de conjugación hepática, se elimina más 6- β -hidroxycortisol no conjugado (Ulstrom y col. 1960) indicando más que una incapacidad de metabolizar el cortisol, su degradación por caminos que en el adulto tienen menos importancia.

En los primeros 5 días la secreción de cortisol esta aumentada en relación a la superficie corporal ($18,7 \pm 3,7 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h.}$), aunque en cifras totales sea baja 3,5 a 6,1 mg), pero luego la cuantía de producción es similar a la del adulto si se expresa en mg. por 24 h. y por m^2 de superficie corporal ($11,8 \pm 2,5 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h.}$).

Ese aumento temporal en relación a la superficie corporal sería expresión de un aumento de la demanda durante la adaptación a la vida extrauterina (Kenny y col. 1963; Kenny y col. 1966; Aarskog, 1965).

3.- Edad.

El cortisol plasmático no varía significativamente con la edad (De

Moor y col. 1960; West y col. 1961; Iturzaeta y col. 1970; Jensen y Blichert-Toft, 1970), tanto en el sexo masculino como en el femenino, aunque a partir de los 60 años se nota una ligera elevación. Bliss y col. (1953) en 29 individuos con edades comprendidas entre 64 y 95 años, hallan una media de $12, \pm 6 \mu\text{g}/100 \text{ ml.}$, frente a $13 \pm 6 \mu\text{g}$ en 120 sujetos de edad media (20 - 45 años).

Aunque la producción diaria del cortisol va aumentando con la edad e igual la eliminación de los 17-hidroxycorticoides urinarios, si los resultados se expresan según la superficie corporal desaparece esa diferencia y entonces la producción diaria del cortisol es de $11,8 \pm 2,5 \text{ mg/m}^2/\text{día}$ y los 17-OHCS urinarios $3,5 \text{ mg/m}^2/\text{día}$ (Kenny y col. 1966). Según Romanoff y col. (1969) con el envejecimiento disminuye ligeramente la producción de cortisol y de forma más marcada la de pregnenolona y progesterona, pero esas diferencias frente a los sujetos jóvenes desaparecen con el estímulo de ACTH.

El ritmo circadiano del cortisol plasmático no se establece definitivamente hasta los 3 años de edad (Franks, 1967) y no se pierde con el envejecimiento natural (Silverberg y col. 1968).

La respuesta al ACTH tampoco varía con la edad, como han observado West y col. (1961), Wood y col. (1965) y B. y M. Blichert-Toft (1970). También es normal la prueba de la metopirona (Jensen y Blichert-Toft. 1970).

4.- Sexo.

Tampoco hay diferencias significativas entre ambos sexos, ya por grupos de edades ya considerados en su totalidad, aunque en conjunto las mujeres tengan una concentración plasmática del cortisol ligeramente superior a los hombres (De Moor y col. 1960). Parecidos son los resultados de otros autores (Bliss y col. 1953; Lewis, 1957; Stewart y col. 1961; Mattingly, 1962).

En las mujeres, sin embargo, hay que tener la precaución de conocer si están sometidas a tratamiento con estrógenos o anovulatorios, situaciones ambas que aumentan la concentración de transcortina, y por consiguiente del cortisol plasmático.

Las pruebas de estimulación con ACTH no diferencian los sexos (Wood y col. 1965), ni tampoco la de Metopirona, L-Vasopresina o pirógeno.

5.- Embarazo.

Durante la gestación aumenta de forma progresiva a lo largo de los meses la concentración plasmática del cortisol (Gemzell, 1953; Christy y col. 1955; Lewis, 1957; Martin y Mills, 1958; Cohen y col. 1958), alcanzando cifras de 40 µg en el 9º mes. Simultáneamente y seguramente como reacción secundaria a ese aumento, desciende la producción diaria de cortisol (Migeon y col. 1968).

En el momento del parto los niveles del cortisol plasmático y en el cordón umbilical son mayores si es por vía vaginal que si se realiza cesárea (Migeon y col. 1956; c; Aarskong, 1965). Y en ese momento aumenta la secreción del cortisol, seguramente por el stress (Migeon y col. 1963).

Después del parto rápidamente se normalizan los niveles del cortisol (Lewis, 1957), aunque si la madre lacta al niño, la normalización no es aun completa.

Sin embargo hay poca variación de los 17-OHCS urinarios (Cohen y col. 1958).

Por otra parte, durante el embarazo, la respuesta del cortisol plasmático a la estimulación con ACTH es hiperreactiva semejante al Cushing por hiperplasia (Christy y col. 1955; Cohen y col. 1958).

Pero se conserva intacto el ritmo circadiano (Cohen y col. 1958).

Este aumento del cortisol plasmático se atribuyó a una disminución de su degradación (Cohen y col. 1958) por efecto estrogénico (Martin y Mills, 1958) ya que los estrógenos aumentan el cortisol plasmático ligado a las proteínas impidiendo su catabolismo (Mills y col. 1960). En realidad se trata de un aumento de la transcortina, progresivo a lo largo del embarazo y paralelo al cortisol (Doe y col. 1964). Pero últimamente se ha visto que también está aumentado el cortisol libre en plasma (no ligado a las proteínas) y su ritmo circadiano algo alterado, pues sólo desciende un 50 %

a la noche (el descenso normal es un 80%); por ello también aumenta el cortisol libre urinario. Todo ello indica una exposición a niveles altos de cortisol durante los últimos meses del embarazo (Rosenthal y col. 1969; O'Connell y Welsh, 1969; Doe y col. 1969; Burke y Roulet, 1970), pero conservando las proporciones normales entre el cortisol ligado a la CBG y a la albúmina y el cortisol libre (Rosenthal y col. 1969).

6.- Stress.

Es indudable que cualquier situación de alarma o stress a través del eje SNC-hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (Selye), produce un aumento del cortisol plasmático en relación con la intensidad y tipo del estímulo.

Un stress típico, las intervenciones quirúrgicas, elevan el cortisol plasmático (Franksson y Gemzell, 1953; Bondy y col. 1953; Lewis, 1957, - Engell y col. 1961; Stewart y col. 1961; Rudd y col. 1963) hasta 40 $\mu\text{g}/100$ ml.

También en las meningitis agudas que cursan con fiebre alta se detecta un aumento considerable del cortisol en el plasma (hasta 50 μg) y en el líquido cefalorraquídeo (Uete y col. 1970), que se normaliza conforme mejora la enfermedad.

Simplemente, el hecho de ingresar en un hospital hace que los primeros días sea algo más elevado el cortisol plasmático (24,7 μg) que más adelante (20,8 μg) según observaciones de De Moor y col. (1960), en varones pero que no ocurría en las mujeres.

Otros tipos de stress, mencionados por Yates y Urquhart (1962) capaces de elevar la concentración plasmática del cortisol son las emociones fuertes, la hipoxia con calor, el trabajo muscular, la privación del sueño, las enfermedades agudas, e igualmente el infarto miocárdico (Logan y Murdoch, 1966). En general el aumento es discreto y no sobrepasa los límites normales (Lewis, 1957), si el stress es poco intenso.

El ejercicio no afectaría los niveles de cortisol plasmático (Lewis, 1957).

En las horas precedentes a la muerte se elevan los niveles plasmáticos del cortisol (Migeon y col. 1956, d) alcanzando en ocasiones valores muy por encima de lo normal.

Otras situaciones consideradas como stressantes, como una neoplasia cerebral con hipertensión intracraneal, pueden no alterar la concentración plasmática del cortisol, ni del l.c.r. (Uete y col. 1970).

Los cambios en el cortisol sanguíneo son precedidos de variaciones semejantes en el contenido de ACTH hipofisario en las ratas, y la respuesta no es continua sino bifásica, con un aumento inicial, un descenso y luego un aumento más mantenido (Knigge y col. 1959). También en el hombre se ha observado una elevación del ACTH plasmático coincidente con el aumento del cortisol durante las intervenciones quirúrgicas (Cooper y Nelson, 1962; Ney y col. 1963).

7.- Síndrome de Cushing.

En el síndrome de Cushing de una u otra etiología está elevada la secreción de cortisol estimada por métodos isotópicos, pero además la vida media del cortisol plasmático, o el tiempo medio de desaparición es normal, no está acortado como ocurre en las situaciones de hiperconsumo (hipertiroidismo, obesidad) ,y si se expresa la secreción diaria por superficie corporal también está aumentada.

En general la secreción diaria de cortisol es mayor de 30 mg pero puede llegar a ser de 170 mg/24 h. (Bethge y col.1969), y si se trata de casos de Cushing por secreción ectópica de ACTH, puede alcanzar cifras de hasta 420 mg/24 h.

El cortisol en plasma suele estar elevado. Otras veces es normal, pero está alterado el ritmo circadiano (Doe y col. 1960, a; Nugent y col. 1960; Ekman y col. 1961).

A veces puede mostrar oscilaciones de unos días a otros. Pero la desaparición del ritmo circadiano es el hecho más notable, ya sea la etiología una hiperplasia, un adenoma o un tumor.

Los 17-hidroxycorticoides urinarios pueden también ser normales o altos (Smith y Mellinger, 1956; Vivanco, Ramos y Arrieta, 1961) en relación con los niveles plasmáticos del cortisol.

El cortisol libre en plasma se eleva (Doe y col. 1960, b) ya que - al aumentar la secreción de cortisol por las suprarrenales, se satura la transcortina y aumenta la proporción de cortisol libre. E igualmente se altera el ritmo circadiano del cortisol libre (Burke y Roulet, 1970). Ello puede tener escaso reflejo en la concentración del cortisol plasmático - (cortisol unido a las proteínas más el libre) pero aumenta notablemente el aporte de cortisol libre a los tejidos y al glomérulo renal, lo que - ocasiona, a pesar de su reabsorción tubular, un gran aumento en su eliminación urinaria por encima de 400 $\mu\text{g}/24 \text{ h.}$ (Cope y Black, 1959; Beisel y col. 1964, a; Mattingly y Tyler, 1967). Esa misma razón debe hacer que - se eleve el cortisol en la saliva, tanto basal como después del estímulo con ACTH (Shannon y col. 1966).

La transcortina es normal (Doe y col. 1964) aunque en algún caso - particular se ha encontrado disminuida la capacidad plasmática para ligar cortisol (De Moor y col. 1965, a).

El ACTH en plasma varía conforme a la etiología del síndrome. Puede ser normal (menor de 1 mU/100 ml), pero sin ritmo circadiano en las primeras fases del Cushing por hiperplasia; puede estar francamente elevado (de 2 a 400 mU/100 ml), si la etiología es un tumor hipofisario, o está completamente anulada su secreción en los casos de adenoma o cáncer suprarrenal (Nelson y col. 1966). Otra cosa muy diferente son los síndromes de Cushing por secreción ectópica de ACTH, los cuales cursan con niveles ligeramente altos de ACTH en plasma (hasta 4 mU/100 ml) o bastante elevados (Landon y col. 1968).

En cuanto al comportamiento del cortisol plasmático frente a las diferentes pruebas de estimulación con ACTH, metopirona, Lisina-Vasopresina, pirógenos, o en las de supresión con dexametasona, ya se hablará un poco más adelante al tratar de las pruebas dinámicas del cortisol plasmático.

En general si el Cushing es por hiperplasia suprarrenal, habrá respuesta hiperreactiva al ACTH, metopirona (Liddle y col. 1959) y L-Vasopresina (Webb-Peploe y col. 1967; Bethge y col. 1969), y cierta supresión con dexametasona. La respuesta a la hipoglucemia suele fallar lo que indica disfunción hipotalámica en este síndrome (Landon y col. 1965; Bethge y col. 1969).

Si la etiología es un adenoma, puede haber cierta respuesta al ACTH, pero falta de supresión con la dexametasona, y ausencia de respuesta a la metopirona (Liddle y col. 1959; Meikle y col. 1969) y a la L-Vasopresina (Webb-Peploe y col. 1967; Bethge y col. 1969).

El carcinoma suprarrenal se comporta como el adenoma pero sin responder nada al ACTH, aunque en algunos casos sí hay respuesta (Soffer y col. 1961). No responden a la Lisina-Vasopresina (Tucci y col. 1968) ni a la Metopirona (Liddle y col. 1969; Gold y col. 1960, a ; Meikle y col. 1969).

Si la etiología es un tumor ectópico secretor de ACTH, los niveles de cortisol serán muy elevados y fallará la respuesta ante todas las pruebas, excepto la de Lisina-Vasopresina que puede ser hiperreactiva (Strott y col. 1967), pero no siempre (Webb-Peploe y col. 1967).

8.- Enfermedad de Addison.

El grado de destrucción de la corteza suprarrenal marcará la mayor o menor disminución de la secreción del cortisol, que en general oscilará entre casi cero y 5 mg/24 h., siendo con frecuencia menor de 1mg. (Cope y Black, 1958, b).

La concentración del cortisol plasmático en los casos bien establecidos está francamente disminuída, por debajo de 5 µg/100 ml, pero si existe tejido funcionante puede estar trabajando al máximo y conseguir unas cifras normales del cortisol plasmático. Por eso, lo importante es conocer el grado de afectación glandular midiendo la reserva esteroidea mediante la estimulación con ACTH, ya sea por vía i.m. (Farmer y col. 1961; Maynard y col. 1966) o mejor en infusión i.v. durante 6 u 8 horas (Eik-Nes y col.

1954 y 1955; Christy y col. 1955; Sandberg y col. 1957; etc.) o simplemente midiendo el cortisol plasmático antes y después de la inyección i.m. ó i.v. directa de un ACTH sintético (Wood y col. 1965; Moncloa y col. 1966).

Por cualquiera de dichos métodos, la falta absoluta de respuesta sin elevación de los 17-OHCS urinarios o del cortisol plasmático, caracteriza a la destrucción total de la corteza suprarrenal. Si queda tejido funcional puede estar trabajando al máximo bajo el estímulo persistente del ACTH endógeno, y no responder al ACTH exógeno, o puede mantener aun cierta reserva subnormal, reflejada en un discreto aumento cercano a los límites bajos de la normalidad (enfermedad de Addison latente, reserva suprarrenal disminuida, o insuficiencia adrenal primaria parcial: Maraño y Fernández Noguera, 1949; Abu Haydar y col. 1968; Forsham, 1968).

La vida media del cortisol plasmático es normal (Peterson y col. 1955). La transcortina no está disminuida, manteniéndose en límites normales (Doe y col. 1964).

En cuanto al ACTH plasmático, estará más o menos elevado en relación con las concentraciones del cortisol (Bethune y col. 1957), pero conserva el ritmo circadiano (Graber y col. 1965, b).

9.- Hipopituitarismo.

El hipopituitarismo influencia la secreción adrenal de cortisol en relación con el grado de hiposecreción de ACTH.

Si la hipofunción es secundaria a un tratamiento prolongado con corticoides estarán anuladas la secreción de ACTH y del cortisol plasmático.

Si es una hipofunción hipofisaria de naturaleza tumoral, vascular, infiltrativa u operatoria, el grado de disminución de la secreción de ACTH puede no ser total y entonces se mantiene cierta función suprarrenal (Jenkins y Elkington, 1964), aunque de forma mínima expresada por una disminución de la producción diaria, de las concentraciones plasmáticas, ausencia de ritmo circadiano (Fürst, 1966) y escasa eliminación urinaria de 17-OHCS. Pero no varía la vida media del cortisol en plasma (Peterson y col. 1955).

Si el grado de atrofia suprarrenal no es muy intenso, se observará una respuesta al ACTH exógeno especialmente si se continúa el estímulo con ACTH más de lo habitual, tanto si se miden los corticoides plasmáticos (Christy y col. 1955; Farmer y col. 1961) o los urinarios.

También se puede explorar directamente la reserva hipofisaria con las pruebas de metopirona, hipoglucemia, pirógenos, o con Lisina-8-Vasopresina, aunque hay que tener en cuenta que las tres primeras actúan a través del hipotálamo y la última más directamente sobre la hipófisis (Gwinup, 1965, a; Landon, 1965, b), pudiendo indicar si sólo es normal la Lisina-Vasopresina que el fallo es hipotalámico y no hipofisario, ya que si la hipofunción es primariamente hipofisaria, estarán afectas todas las pruebas con respuestas nulas o muy disminuidas del ACTH plasmático (o del cortisol en plasma, si no se mide el ACTH).

10.- Hiperplasia suprarrenal congénita.

De los 6 defectos enzimáticos capaces de producir este síndrome, los dos primeros (déficit de 20- α -hidroxilasa y 3- β -hidroxiesteroide dehidrogenasa) tienen menos interés por cursar con gran trastorno hidroelectrolítico y ocasionar una muerte precoz.

Si el bloqueo es de la 17- α -hidroxilasa, no se puede formar 17- α -hidroxiprogesterona ni 17- α -hidroxipregnenolona, bloqueándose la síntesis de glucocorticoides y andrógenos, y quedando libre únicamente la producción de mineralocorticoides. Los 17-hidroxycorticoides plasmáticos y urinarios estarán muy disminuidos. Pero si el cortisol plasmático se mide fluorimétricamente puede detectarse la corticosterona aumentada y enmascarar el déficit del verdadero cortisol.

En el bloqueo de la 21-hidroxilasa, que es el más frecuente, está afectada la síntesis de mineralo y glucocorticoides. Entonces los resultados dependerán del grado de inhibición enzimática, detectándose menos cortisol cuanto mayor sea el déficit enzimático.

En la práctica, el cortisol puede no estar disminuido porque otros esteroides aumentados como el pregnanetriol y pregnanetriolona, influyen en la fluorescencia del plasma (Rudd y Black, 1968) cosa que no ocurre

normalmente.

Cuando el bloqueo enzimático afecta a la 11- β -hidroxilasa, aumentan los precursores del cortisol y corticosterona. El 11-desoxicortisol aumenta en el plasma; y en la orina aumenta la concentración de los 17-hidrox*icorticoides* medidos por la reacción de Porter-Silber. Pero los métodos - fluorimétricos no lo miden y en plasma habrá disminución de los 11-hidroxicorticoides.

Por último, si está bloqueado electivamente la síntesis de la aldosterona en el C-18, la vía del cortisol no estará afectada, pero habrá aumento de corticosterona que puede elevar la concentración plasmática de los 11-hidrox*icorticoides* (métodos fluorimétricos).

Los métodos isotópicos tampoco son unánimes en la medición del cortisol plasmático en los estados de hiperplasia suprarrenal congénita, pues por el método de competición proteica puede haber valores más altos que por el doble isotópico debido a la afinidad por la transcortina de otros esteroides diferentes al cortisol, que en estos síndromes se hallan en mayor cuantía de lo habitual (Iturzaeta y col. 1970).

11.- Tratamientos prolongados con corticoides.

Este tipo de terapia actúa sobre el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal anulando la secreción del CRF, del ACTH y del cortisol. Como consecuencia se instaura una atrofia suprarrenal cuyo grado variará conforme a las dosis recibidas y especialmente al tiempo de mantenimiento del tratamiento (Landon y col. 1965, a).

Esto sucede hoy día muy frecuentemente en enfermedades reumáticas y asmáticas, broncopatías, collagenosis y hemopatías. Incluso puede suceder - con aplicaciones tópicas en procesos dermatológicos extensos.

La concentración del cortisol plasmático desciende por debajo de 5 μ g/100 ml. pero su vida media no está alterada (Peterson y col. 1955).

La respuesta al ACTH, por cualquier vía y método está disminuida, e

incluso puede llegar a estar prácticamente abolida si el grado de atrofia suprarrenal es intenso (Christy y col. 1955; Sandberg y col. 1957; Farmer y col. 1961; Graber y col. 1965; Landon y col. 1965, a).

En algunos casos pueden ser buena (Farmer y col. 1961; Maynard y col. 1966) especialmente si se suspende la medicación una semana antes de la prueba o si la dosis es menor de 5 mg/día de prednisona o equivalente. Pero la respuesta es menor cuanto mayor sea la dosis y el tiempo transcurrido (Wood y col. 1965).

También hay que señalar que los corticoides interfieren con la secreción del CRF y por tanto las pruebas de metopirona, pirógenos, hipoglucemia, e incluso la de Lisina-Vasopresina se verán afectadas, en el mismo grado que la hipofunción hipofisaria ocasionada.

La evolución natural de cómo se recobra la función hipofisaria y suprarrenal después de los tratamientos prolongados con corticoides ha sido bien estudiada por Graber y col. (1965), quienes establecen varias fases de recuperación desde la atrofia cortical a la normalidad, e igualmente respecto al ACTH hipofisario que primero aumenta a niveles supranormales pero con ritmo conservado, y finalmente se normaliza.

En el caso de tratamientos prolongados con ACTH en lugar de corticoides, la corteza suprarrenal no se atrofia sino se hipertrofia, pero sí disminuye la respuesta a las pruebas de metopirona, etc., como expresión de una atrofia hipotálamo-hipofisaria explicable por el "feedback" corto (Mess y Martini, 1968).

12.- Obesidad.

En la obesidad existe un aumento de la secreción diaria de cortisol (CPR), estimada en cifras absolutas o por superficie corporal. Migeon y col. (1963) encuentran valores de 31,6 mg/día en varones y 30,6 mg/día en mujeres, equivalentes a $15,3 \pm 4,6 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h.}$, frente a $11,3 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h.}$ en normales, aunque individualmente existe mucha superposición de los resultados, y la mitad de los obesos considerados caían dentro de límites

normales. Para Mlynaryk y col. (1962) esas diferencias desaparecen ajustando la secreción de cortisol al peso: obesos $0,222 \pm 0,058$ mg/kg/24h. y normales $0,214 \pm 0,067$ mg/kg/24 h. Parecidas son las conclusiones de Copinschi y col. (1966).

La vida media del cortisol plasmático estudiada mediante inyección de $4-C^{14}$ -cortisol, suele estar disminuida en los obesos, aunque algunos se comporten como normales.

La concentración plasmática del cortisol basal es normal para De Moor y col. 1960; Migeon y col. 1963; y Gogate y Prunty, 1963; pero algo inferior a lo normal para Schteingart y col. 1963, y Szenas y Pattee, (1959).

El ritmo circadiano no se altera (Schteingart y col. 1963). La respuesta del cortisol plasmático al ACTH en infusión i.v. (Migeon y col. 1963) es similar a los sujetos normales e inferior a la observada en el síndrome de Cushing. Pero a veces hay excepciones a estas reglas (Jackson y Mowat, 1970).

Si se administra 1 mg. de dexametasona la noche anterior (Nugent y col. 1965; Pavlatos y col. 1965) y se mide a la mañana siguiente el cortisol plasmático, su concentración desciende en los normales y obesos por debajo de 5 μ g, pero no en los pacientes con síndrome de Cushing.

Los 17-OHCS urinarios están aumentados en los obesos (Borth y col. 1957). Migeon y col. (1963) encuentran valores de $4,3 \pm 1,9$ mg/m²/24 h., en comparación con $3,1 \pm 1,1$ mg/m²/24 h. en los normales.

Por otra parte, al reducir peso y desaparecer la obesidad, los 17-OHCS urinarios se normalizan (Cohen, 1958; Migeon y col. 1963; Garcés y col. 1968; Jackson y Mowat, 1970), aunque Schteingart y Conn (1955) lo relacionan más con la restricción proteica que con la disminución de las calorías. Al disminuir el peso, también disminuye la secreción diaria del cortisol (Garcés y col. 1968; Jackson y Mowat, 1970).

La eliminación del cortisol libre urinario en 24 h. es normal en los obesos (Schteingart y col. 1963).

Frente a las pruebas de estimulación con ACTH, los 17-OHCS urinarios responden por encima de lo normal. Por el contrario responde a la supresión con dexametasona de forma similar a los normales (Migeon y col. 1963).

En resumen, los obesos eliminan más 17-OHCS por orina en condiciones basales y tras el estímulo con ACTH, a causa de una mayor producción diaria de cortisol, pero mantienen normales los niveles plasmáticos de cortisol, y el cortisol libre urinario.

Ello indica una cierta hiperfunción suprarrenal secundaria a la mayor masa corporal (Mlynaryk y col. 1962; Copinschi y col. 1966) o sea por aumento de las necesidades corporales. Para Migeon y col. (1963), tendría como objeto compensar el estado de hiperinsulinismo de los sujetos obesos.

13.- Hepatopatías crónicas.

El hígado es el primer órgano responsable del catabolismo de las hormonas esteroideas. Por ello se comprende fácilmente que sus alteraciones repercutan sobre la función suprarrenal.

Muchos autores han descrito en la cirrosis cifras bajas de eliminación urinaria de corticoides, junto con niveles normales en sangre, y mayor vida media del cortisol plasmático. En la autopsia se ha encontrado disminución del material lipóideo, adelgazamiento de la corteza y frecuentemente nódulos corticales.

Una reducción de la masa hepática por extirpación del 65%, conduce a cambios similares en la función suprarrenal, luego el primus movens está en el hígado (Urquhart y col. 1959).

Para Peterson (1960), el metabolismo del cortisol es más lento de lo normal, cosa que no ocurre con la cortisona, corticosterona, aldosterona, 9- α -fluorocortisol, Δ^1 9 α -fluorocortisol, DHF, DHE, THF y THE, que se metabolizan al mismo ritmo en cirróticos y normales.

La desaparición del plasma de la hidrocortisona inyectada podría servir de prueba funcional hepática, ya que su alteración aparece precozmente en las disfunciones leves.

Si se administra cortisol marcado ($4\text{-C}^{14}\text{-cortisol}$), aparecerán en orina sus metabolitos libres o conjugados en la misma proporción en cirróticos y normales. Ello unido a que si se infunde THF se metabolice normalmente, indica que no hay defecto de conjugación. Solo aparece una disminución de los glucurónidos si se administra una dosis alta de cortisol. Como el DHF desaparece del plasma de los cirróticos a un ritmo normal, la explicación del enlentecimiento del metabolismo del cortisol debe estar en la enzima 5-dihidrocortisol dehidrogenasa que interviene en el paso de cortisol a DHF.

No puede ser defecto de TPNH, ni de la circulación hepática pues estarían afectados también los otros esteroides mencionados.

El resultado de la mayor vida media del cortisol plasmático sería un aumento de la concentración del cortisol en plasma. Pero ese aumento es solo temporal, ya que a través del servomecanismo, disminuye la secreción de CRF y de ACTH, y la secreción diaria de cortisol se hace menor.

Cabría la posibilidad teórica de una adaptación a ese hipometabolismo variando la proporción entre el cortisol ligado a las proteínas y el libre, sin variar la concentración total que sería normal. Pero parece ser que la unión del cortisol a la transcortina es normal en los cirróticos (Sandberg y Slaunwhite, 1959).

Los pacientes con insuficiencia hepática tienen cierto grado de hipofunción suprarrenal en cuanto sintetizan menos mg/día de cortisol que los sujetos normales. Pero son "eucorticoideos" en cuanto mantienen el cortisol plasmático a nivel normal porque lo metabolizan más lentamente (Peterson, 1960).

Sin embargo, para Zumoff y col. (1967), la producción diaria de cortisol es normal, y lo que está alterado es su degradación apareciendo en orina un patrón de distribución de los catabolitos diferente al normal, con discreta disminución de los glucurónidos, aumento de la α -cortolona y sustancias U y epi-U de Reichstein, mientras el THF y ATHF y cortoles son normales, y la THE está disminuida. Lo explican por una disminución de la reducción del anillo A de la cortisona y aumento de la reducción del grupo 20-CO cuya aparición no estaría causada por las altera-

alteraciones circulatorias del hígado (el patrón es similar en los casos con anastomosis porto-cava) sino por la colostasis intrahepática como se ha visto administrando noretandrolona que reproduce esos cambios anatómicos (colostasis) y ese mismo reparto de los metabolitos del cortisol, pero sin alteración en la formación de glucurónidos.

Para Christy y col. (1959), la respuesta de los 17-OHCS plasmáticos al ACTH es normal en los cirróticos.

La enfermedad hepática no sólo afecta al metabolismo del cortisol. Por muchos autores se han descrito en la cirrosis hepática, cifras bajas de eliminación de los 17-cetosteroides urinarios; e igualmente en la hepatitis viral o tóxica, y en la ictericia obstructiva (Peterson, 1960). Y esa hipofunción androgénica no se puede explicar a través de la hipoproducción de cortisol, ya que éste solo contribuye en un 5 - 10% del total de los 17-cetosteroides.

Queda la capa glomerular de las suprarrenales, que por el contrario posee en los cirróticos una mayor función especialmente si hay ascitis. En esos casos, está aumentada la cuantía de secreción diaria de aldosterona (Peterson, 1960) y sus niveles plasmáticos como respuesta a la hipersecreción del sistema renina-angiotensina secundario al déficit de irrigación renal por la hipovolemia.

14.- Hipertiroidismo.

En el hipertiroidismo está disminuída la vida media del cortisol - plasmático por aumento de la demanda tisular (Peterson y col. 1955; Brown y col 1958; Melby, 1959, a).

La tiroxina estimula el metabolismo periférico del cortisol aumentando la producción de compuestos oxidados en el C-11 (cortisona y derivados) a partir del cortisol, DHF, THF y cortol (Hellman y col. 1961).

De esa forma en el hipertiroidismo se produce más cortisona a expensas del cortisol pero como los compuestos 11-cetos no actúan sobre el - servomecanismo hipotálamo-hipófisis-adrenal y además la tiroxina aumenta

la reducción del anillo A de los corticoides (Yates y col. 1958) con lo que disminuye su concentración plasmática, se estimula la secreción de CRF y ACTH, provocando una cierta hiperfunción suprarrenal para mantener normal el nivel del cortisol plasmático (Peterson, 1958). Por los métodos colorimétricos, la medición de los 17-OHCS plasmáticos puede estar elevada pues detecta también la cortisona y sus derivados, pero a veces está disminuida (Martin y col. 1963) como expresión de su mayor catabolismo.

El resultado es un aumento de la cuantía de secreción diaria de cortisol incluso hasta más de dos veces lo normal, con lo cual la reserva suprarrenal está disminuida lo que explica su asociación con la enfermedad de Addison, con una frecuencia mayor que en el resto de la población (Gastineau y col. 1964).

El ritmo circadiano está exagerado (Martin y col. 1963).

En la tormenta tiroidea, el exceso de ritoxina circulante conduce a una situación de insuficiencia suprarrenal a pesar del aumento de producción de cortisol ya que éste se transforma en 11-ceto derivados de menor actividad biológica. De ahí el buen resultado de añadir hidrocortisona (100-300 mg/día) al tratamiento de la crisis tirotóxica (Hellman y col. 1961).

Por el contrario también hay descritos casos raros de hipertiroidismo asociado con síndromes de Cushing. Curiosamente en el publicado por Kreines y Esselborn (1968) los 17-OHCS plasmáticos estaban disminuidos; eran de 3 a 7 μ g pero sin ritmo circadiano, y después de normalizar la función tiroidea subieron a 21 μ g al mismo tiempo que la CBG que era de 20 mg/l. subió a 31 mg/l. Corrientemente no hay variación de la CBG plasmática en el hipertiroidismo (Doe y col. 1964).

Los 17-OHCS urinarios suelen estar elevados como expresión del aumento de secreción cortical y al parecer con más regularidad que ésta (Kenny y col. 1967).

Además de los factores periféricos en el metabolismo del cortisol, también se vería afectado el S.N.C. y la hipófisis en las disfunciones tiroideas como lo prueba la exageración del ritmo circadiano y de la respu

ta a la metopirona en el hipertiroidismo y viceversa en el mixedema -
(Martin y Mintz, 1965). Para Cushman (1968, a) la respuesta a la metopi-
rona es lenta pero normal.

15.- Hipotiroidismo.

Al contrario que en el hipertiroidismo, en la hipofunción tiroidea primaria o secundaria, la oxidación del cortisol en el C-11, está disminuida, por lo que la proporción de 11-hidroxiderivados (cortisol) es - mayor y como su degradación en el anillo A esta disminuida, es mayor su influencia sobre la secreción de CRF que disminuye. También se deprime la secreción de ACTH, y las suprarrenales funcionan a un nivel más bajo de lo normal.

La vida media del cortisol está pues alargada, pero su concentración plasmática se mantiene normal con lo que el sujeto está en situación eucorticoidea.

La hipofunción suprarrenal es pues de tipo compensatorio (Peterson, 1958) y está más deprimida cuanto mayor sea la duración y grado del hipotiroidismo (Kenny y col. 1967).

A veces la concentración del cortisol plasmático puede estar elevada y su descenso nocturno es menor con lo que altera el ritmo circadiano (Martin y col. 1963).

No hay variación de la CBG plasmática (Doe y col. 1964).

Una prueba indirecta del lento metabolismo del cortisol en el hipotiroidismo es la facilidad con que se les produce un síndrome de Cushing - introgénico con dosis de corticoides que el mismo enfermo en situación de eutiroidismo tolera bien, y la facilidad con que remite el cuadro con la sola administración de tiroxina o rebajando la dosis de corticoides - (Parfitt. 1964).

Los 17-OHCS urinarios están disminuídos como consecuencia de la menor producción y consumo de cortisol.

La asociación de hipotiroidismo y Addison de una misma etiología autoinmune, síndrome de Schmidt (Solomon y col. 1965) no tiene que ver con

los problemas aquí citados.

Los hipotiroideos responden bien al estímulo con ACTH, con una elevación del cortisol plasmático similar a los normales (Lessof y col. 1969; Havard y col. 1970) y que no varía con el tratamiento con tiroxina, pero tiene una respuesta subnormal a la hipoglucemia insulínica (Havard y col. 1970), a la Lisina-3-Vasopresina (Lessof y col. 1969) y a la metopirona - (Gold y col. 1961; Cushman, 1968,a) lo que junto con el escaso descenso del cortisol nocturno (ritmo circadiano alterado), prueba una influencia directa de las hormonas tiroideas sobre la regulación hipotalámica del sistema hipófisis-suprarrenales (Martin y Mintz, 1965).

16.- Diabetes.

La función suprarrenal en el diabético compensado no difiere de lo normal (Eik-Nes y col. 1955).

Pero en la diabetes descompensada especialmente en la acidosis diabética existiría un aumento del cortisol plasmático, que parece ser una reacción inespecífica al stress de la situación sin relación con la etiología diabética.

Las teorías que explicaban la retinopatía a través de cierto grado de hipercorticismismo, carecen de validez actualmente.

Sin embargo en los diabéticos complicados se han descrito elevación de los 17-OHCS plasmáticos, alteración del ritmo circadiano y aumento de la respuesta al ACTH y a los pirógenos, como si existiera una hiperfunción suprarrenal de origen hipotalámico (Lentle y Thomas, 1964).

Sí que aumenta el cortisol de una manera clara en las crisis hipoglucémicas como reacción de compensación para que ejerza sus acciones gluconeogénica y lipolítica. Este hecho constituye el fundamento de la prueba de la hipoglucemia insulínica para conocer el estado del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, (Landon, Wynn y James, 1963; Greenwood y col. 1966; Carroll y col. 1969, a).

Como algunos niños de madres diabéticas nacen con rasgos cushingoides,

se suponía estaban sometidos a altos niveles de cortisol, pero si es verdad debe ser durante la vida intrauterina, ya que a partir del nacimiento esa suposición no ha podido ser confirmada(Aarskog, 1965).

17.- Feocromocitoma.

El cortisol plasmático es normal (Lewis, 1957).

Pero hay raros casos de hiperadrenocorticismo asociado (Steiner y col. 1968) que se explican de diferentes formas, de las cuales las más probables sea la formación de cortisol por el mismo feocromocitoma, siempre que se descarte un síndrome de ACTH ectópico. Una posibilidad teórica basada en las experiencias de Wurtman (1966), es que el Cushing favoreciera la aparición de feocromocitoma, cosa no demostrada en la práctica.

18.- Acromegalia.

En la acromegalia parece existir cierto grado de hiperfunción suprarrenal expresado por el aumento de CPR, pero los 17-OHCS plasmáticos son normales así como su ritmo circadiano y la respuesta al ACTH (Roginsky y col. 1966).

En ocasiones el ritmo circadiano puede desaparecer (Tsin y col. 1970) lo mismo que ocurre en otros tumores hipofisarios (Furst, 1966).

La CBG es normal (Doe y col. 1964).

La respuesta a la metopirona suele ser también normal (Gold y col. - 1960, a; Farmer y col. 1961), pero a veces puede estar alterada igual que la prueba de L-Vasopresina, hipoglucemia o pirógenos (Jenkins y Else, 1968).

A veces puede existir evidencia de hipopituitarismo y las respuestas a todas esas pruebas serán subnormales (Tucci y col. 1968).

19.- Otras situaciones.

a) ayuno prolongado: Despues de 24 horas de ayuno se eleva ligeramente el cortisol, pero sin exceder los límites normales (Lewis, 1957). En los obesos, el ayuno prolongado al disminuir de peso rebaja la producción diaria del cortisol y la eliminación de 17-OHCS urinarios, cosa que no ocurre en el Cushing (Jackson y Mowat, 1970).

La ingestión de alimentos no influye en las concentraciones del cortisol en plasma, pero aumenta la proporción de lípidos plasmáticos pudiendo interferir con la metódica en el momento de la extracción plasmática con los diversos solventes. Sin embargo, en sí no altera las concentraciones plasmáticas de cortisol que son similares antes y después del desayuno o de la comida (Nuki y col. 1969, b).

b) Caquexia: La desnutrición intensa por sí, no parece influir notablemente en la concentración del cortisol plasmático. Así De Moor y col. (1960) en 22 pacientes con caquexia halla una media de 19,9 μg frente a 20,8 μg en 92 varones normales, y 22,0 μg en 51 mujeres normales.

Tampoco Landon y col. (1963) ven diferencias con los normales ni en las concentraciones basales ni en la respuesta a la hipoglucemia.

Pero a veces la respuesta a la metopirona falla (Gold y col. 1961).

En la anorexia nerviosa no suele haber alteración de la respuesta al ACTH, metopirona ni vasopresina (Tucci y col. 1968) pero puede existir respuesta subnormal, p. ej. a la metopirona (Gold y col. 1961).

c) Descanso prolongado en cama: Esta situación parece ser que baja ligeramente los niveles de cortisol en plasma, 18 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. frente a 21,4 μg en normales (De Moor y col. 1960), pero de forma no significativa.

d) Alcoholismo: Durante el Delirium Tremens están aumentados los 17-OHCS plasmáticos (30,4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, frente a 16,1 μg , una vez recuperados), explicándose por la situación de stress (Kissin y col. 1959).

Al beber un vaso de whisky se eleva el cortisol entre 10 y 24 μg en

las personas normales, pero no se eleva o desciende en los bebedores, por causa, seguramente, de un deterioro en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales (Merry y Marks, 1969).

Parece que metabolizan más lentamente la hidrocortisona exógena, en relación con el grado de afectación hepática (Kissin y col. 1959).

J. PRUEBAS DINAMICAS DEL CORTISOL EN PLASMA.

1.- Estímulo con ACTH.

El ACTH plasmático es el estimulador natural de la síntesis de los corticoides adrenales. Es lógico que después de su descubrimiento y aislamiento en las hipófisis animales, se empleara con fines diagnósticos midiendo primero la respuesta de los metabolitos del cortisol en orina y más tarde el mismo cortisol plasmático. De esa forma y teniendo en cuenta que las suprarrenales en condiciones normales no trabajan a pleno rendimiento, se puede conocer su capacidad o reserva funcional.

En 1954 Eik-Nes y col. estudiaron la respuesta de los 17-OHCS plasmáticos al ACTH en goteo i.v., observando que ya había efecto con 1 U.I. de ACTH pero que era máximo con 25 U.I. sin que una dosis mayor fuera más eficiente. También estableció la infusión durante 6 horas como la más idónea. De esa forma comprobó en 39 sujetos que los 17-OHCS plasmáticos subían desde $11 \pm 4 \mu\text{g}$ antes de la infusión de 25 U.I. de ACTH, a $40 \pm 12 \mu\text{g}$ al final de la misma. Parecidos resultados obtuvieron Christy y col. en 1955 y posteriormente otros autores (De Moor y col. 1960; Migeon y col. 1963; Gantt y col. 1964; y Landon y col. 1965, a) como se puede observar en el cuadro II-3 que muestra también unos valores basales y al final de ACTH algo más elevados por los métodos fluorimétricos; en general se obtiene un aumento entre 3 y 4 veces la concentración de partida.

También se puede realizar la prueba poniendo el ACTH por vía i.m. y los resultados son similares a los anteriores, independientemente que la dosis de ACTH sea 20 u 80 U., a excepción de la casuística de Kornel

(1969) que a las 32 h. del comienzo del estímulo (40 U.I. de ACTH gel - cada 8 horas)(o sea 160 U.I.) obtiene una media de 58,3 μ g, algo mayor - que los 35 a 45 μ g que obtienen otros autores (Soffer y col. 1957; Shannon y col. 1959; Dyrenfurth y col. 1960; Jenkins, 1961; Farmer y col. 1961; y Maynard y col. 1966) a las 2 ó 4 horas de efectuado el estímulo (20 a 80 U.).

Arner y col. (1963) hacen la prueba por vía subcutánea con resultados superponibles (ver tabla II-3).

En 1961, Kappeler y Schwyzer sintetizan la β^{1-24} -corticotrofina, - con actividad 100 veces mayor a la del ACTH clásico, de forma que 0,25mg de este tetracosapéptido equivalen a 25 U.I. de ACTH.

Dos años después Jenny y col. (1963) y en 1964 Landon y col., lo utilizan en infusión i.v. para ver la respuesta del cortisol plasmático, - consiguiendo unos resultados similares a los descritos anteriormente con ACTH clásica. Parecidos son los resultados de Nuki y col. (1969, a), y algo más elevados los de Whaley y col. (1969).

Wood y col. (1965) quieren simplificar la prueba y hacerla rápida poniendo el Synacthem i.m. (0,25 mg) y efectivamente el cortisol inicial de 14,7 μ g (en 66 normales) sube a 31,4 \pm 5,1 μ g/100 ml de plasma, media hora más tarde. Resultados parecidos consiguen Greig y col. 1966, con la misma técnica. Moncloa y col. (1966) han utilizado también el Synacthen, 0,25 μ g, pero poniéndolo directamente en vena con lo que a la media hora el cortisol es de 23,5 \pm 2,3 μ g/100 ml, en 10 normales.

Las ventaja del tetracosapéptido, β^{1-24} corticotropina, sobre el - ACTH clásico es la facilidad de manejo, y la falta de reacciones de sensibilidad incluso en individuos con reacciones alérgicas o anafilácticas al ACTH (Jenny y col. 1963; Landon y col. 1964).

Al parecer el tetracosapéptido de acción retardada, y que contiene 1 mg de sustancia activa equivalente a 100 U.I. de ACTH, se ha visto que el efecto máximo lo ejerce entre 4 y 8 horas después de inyectado i.m. - consiguiendo concentraciones plasmáticas máximas de 20 a 35 μ g a las 6 h. (Gilboa y col. 1966), entre 60 y 70 μ g a las 8 horas (Besser y col. 1967; Asfeldt, 1968), de 55 μ g a las 5 1/2 horas y 60 μ g a las 8 horas -

SUJETOS NORMALES: RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON ACTH
SEGUN DIVERSOS AUTORES

Nº	A C T H	Tiempo que	METODO	CORTISOL		A U T O R E S
		miden la		pg/100 ml.		
<u>respuesta</u>						
<u>Basal</u>						
<u>ACTH</u>						
<u>ACTH en infusión gota a gota i.v.</u>						
39	25-50 U. en 6 h.	final	Color.	11,0	40,0	Eik-Nes y col. 1954
11	25 U. en 4 h.	final	Color.	13,7	44,5	Christy y col. 1955
17	25-50 U. en 6-8h.	final	Fluor.	21,9	60,0	De Moor y col. 1960
65	25 U. en 6 h.	final	Color.	13,0	41,0	Migeon y col. 1963
18	25 U. en 6 h.	final	Fluor.	18,7	58,8	Gantt y col. 1964
58	50 U. en 5 h.	final	Fluor.	12,6	48,1	Landon y col. 1965
<u>ACTH por vía intramuscular.</u>						
6	40 U. Gel	2horas	Color.	9 a 24	26 a 45	Soffer y col. 1957
18	40 U Gel	2 horas	Color.	13,7	35,1	Shannon y col. 1959
20	20 U Sol.	4 horas	Color.	14,0	38,5	Dyrenfurth y col.1960
26	40 U Zinc.	4h.(2días)	Color.	12,7	34,5(1º) 43,7(2º)	Jenkins. 1961
21	80 U Gel.	4 horas	Color.	16,4	44,2	Farmer y col. 1961
21	25 U Sol.	1 hora	Fluor.	19,2	43,9	Maynard y col. 1966
56	160 U Gel.(4x40)	32 horas	Color.	12,8	58,3	Kornel, 1969
<u>ACTH por vía subcutánea.</u>						
33	25 U	1 hora	Fluor.	21,3	40,6	Arner y col. 1963
<u>Synacthen en infusión gota a gota i.v. (0,25mg=25 UI ACTH)</u>						
4	0,25mg en 3 h.	final	Color.	8 a 20	30 a 75	Jenny y col. 1963
6	0,50mg en 5 h.	final	Fluor.	10,0	54,7	Landon y col. 1964
9	0,50mg en 5 h.	final	Fluor.	17,7	53,3	Nuki y col. 1969 (a)
10	0,50mg en 5 h.	final	Fluor.	22,5	76,1	Whaley y col. 1969
<u>Synacthen i.v. directo.</u>						
10	0,25mg	1/2hora	Fluor.	10,0	23,5	Moncloa y col. 1966
10	0,25mg	Mx. 2h.	Fluor.	24,0	55,6	Downie y col. 1968
10	0,25mg	Mx.2h.	Fluor.	17,4	37,6	Blichert-Toft B.y H.1970

SUJETOS NORMALES: RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON ACTH
SEGUN DIVERSOS AUTORES

Nº	A C T H	Tiempo que	METODO	CORTISOL		A U T O R E S
		miden la		$\mu\text{g}/100\text{ ml}$		
<u>respuesta</u>						
<u>Synacthen intramuscular.</u>						
66	0,25 mg	1/2 hora	Fluor.	14,7	31,4	Wood y col. 1965
30	0,25 mg	1/2 hora	Fluor.	17,4	33,7	Greig y col. 1966
14	0,25 mg	1/2 hora	Fluor.	10 a 20	15 a 40	Bricaire y col. 1966
10	0,25 mg	Mx. 2 h.	Fluor.	24,4	55,5	Downie y col. 1968
<u>Synacthen DEPOT</u>						
5	1 mg. i.m.	Mx. 6 h.	Fluor.	11,4	27,0	Gilboa y col. 1966
18	1 mg. i.m.	Mx. 4 h.	Fluor.	20,0	63,0	Besser y col. 1967
18	2 mg. i.m.	Mx. 8 h.	Fluor.	20,0	72,0	Besser y col. 1967
8	1 mg i.m.	Mx. 8 h.	Fluor.	15,9	55,4	Asfeldt, 1968
6	1 mg. i.m.	Mx. 8 h.	Fluor.	23,0	60,0	Nelson y col. 1968
13	1 mg. i.m.	Mx.5-7h.	Color.	18,0	45,0	El-Shaboury 1968
13	0,5mg. i.m.	Mx.5-7h.	Color.	18,0	44,0	El-Shaboury 1968
9	1 mg. i.m.	Mx. 5 h.	Fluor.	15,2	52,4	Nuki y col. 1969 (a)
5	1 mg. i.m.	Mx. 4 h.	Fluor.	20,4	52,1	Rohner y Studer, 1969
8	1 mg. i.m.	Mx.4-8h.	Fluor.	9 a 20	25 a 50	Luton y col. 1969
11	0,5 mg.i.m.	Mx.4-8h.	Fluor.	9 a 20	20 a 50	Luton y col. 1969
<u>DN- 75 (0,04 mg= 25 U.I. ACTH)</u>						
10	0,04mg i.v.directo	Mx.2H.	Fluor:	27,0	69,7	Downie y col. 1968
10	0,32mg.i.v.directo	Mx.5h.	Fluor.	19,0	70,9	Whaley y col. 1969
10	0,04 mg. i.m.	Mx.2h.	Fluor.	26,6	40,0	Downie y col. 1968

(Nelson y col. 1968), o de 70 μ g a las 3 horas (Treadwell y Dennis, 1969). Lo mismo se consigue por vía i.m. que s.c. (Nelson y col. 1968). Los resultados son similares con 0,5 y con 1 mg (Luton y col. 1969; El-Shaboury 1968) y con 1 ó 2 mg (Besser y col. 1967). El resultado final es el mismo si el estímulo se hace por la mañana o por la tarde (Rohner y Studer, 1969).

Como prueba diagnóstica sería más larga que las pruebas rápidas de Wood y col (1965), o Moncloa y col. (1966).

Por último, al sintetizarse otro análogo del ACTH, con 25 aminoácidos (DW-75 "Sandoz") en 1966 (Boissonnas, Guttman y Pless) también se ha utilizado para medir el grado de reserva adrenal, observando Downie y col. (1968) que el efecto máximo es como con el Synacthen, a las 2 horas de efectuado el estímulo con una dosis equivalente a 25 U. de ACTH, consiguiendo niveles de cortisol de 69,7 μ g, algo más elevados que con el Synacthen (55,6 μ g) y con efecto más prolongado. Por vía i.m. parece que el DW-75 pierde actividad.

En este sentido el trabajo de Haugen en 1969, es menos valioso, pues se limita a comparar la actividad del DW-75 con el ACTH clásico.

Whaley y col. (1969) obtienen los mismos resultados con 320 μ g de DW-75 en inyección i.v. directa, que con 500 μ g de Synacthen en goteo durante 5 horas.

Todos estos resultados se pueden ver junto con la metodología empleada en el cuadro II-3. Recuérdese que 25 U de ACTH equivalen a 0,25 mg de Synacthen y a 0,04 mg de DW-75.

Frente a ellos, se pueden comparar las respuestas obtenidas en los síndromes de hiper o hipofunción suprarrenal primarias o secundarias.

En el síndrome de Cushing por hiperplasia se suele encontrar una respuesta hiper-reactiva con valores de cortisol plasmático después del estímulo con ACTH, de 60 a 120 μ g/100 ml (Christy y col. 1955; Dyrenfurth y col. 1960; Soffer y col. 1961; Farmer y col. 1961; Kornel, 1961; Moncloa y col 1966), aunque a veces la respuesta puede no ser elevada (Soffer y col. 1961; Kornel, 1969). La respuesta puede ser más hiperreac

tiva si la etiología del síndrome de Cushing es una hiperplasia nodular (Kornel, 1969).

En los casos de adenoma, la respuesta suele ser baja aunque a veces es normal, (Soffer y col. 1961).

Si la etiología es un carcinoma suprarrenal las basales son más elevadas y no hay respuesta al ACTH (Christy y col. 1955; Sandberg y col. - 1957; Soffer y col. 1961), aunque sí puede mostrarla o incluso ser normal (Soffer y col. 1961).

En la enfermedad de Addison no existe respuesta al estímulo con - ACTH aunque a veces las basales sean normales (Eik-Nes y col. 1954 y 1955; Christy y col. 1955; Sandberg y col. 1957; Jenkins, 1961; Maynard y col. 1966; Jenny y col. 1963; Moncloa y col. 1966; Bricaire y col. 1966).

En los casos de hipofunción suprarrenal hipofisaria las basales del cortisol plasmático son tan bajas como en la enfermedad de Addison, pero suele existir respuesta al estímulo con ACTH aunque con menor intensidad que lo normal. La elevación del cortisol dependerá del grado de destrucción hipofisaria (Jenkins y Elkinton, 1964) y será más evidente cuanto - menor sea el tiempo de actividad de la enfermedad y mayor si se efectúa una preparación previa con ACTH, o el estímulo se prolonga varios días. (Christy y col. 1954; Jenkins y col. 1961; Farmer y col. 1961; Jenny y col. 1963; Moncloa y col. 1966).

En los pacientes en tratamiento prolongado con esteroides ocurre una cosa similar, pues la fisiopatología es parecida: una abolición de la secreción de ACTH por causa exógena en estos casos. Las basales serán más bajas, y la respuesta al ACTH menos manifiesta cuanto mayor sea la dosis administrada y el tiempo transcurrido (Landon y col. 1965; Graber y col. 1965, a); si la dosis de corticoides no excede 2,5 mg/día de prednisona, la respuesta será muy similar a lo normal (Wood y col. 1965); si la dosis es mayor el grado de respuesta será variable pero siempre inferior a lo normal (Sandberg y col. 1957; Jenkins, 1961; Farmer y col. 1961; Maynard y col. 1966; Landon y col. 1964; Wood y col. 1965; Downie y col. 1966).

Si la terapia esteroidea se hubo realizado con ACTH en lugar de con corticoides, no habrá diferencias con los individuos normales (Farmer y

col. 1961) o la respuesta será hiperreactiva.

2.- Supresión de la actividad suprarrenal con Dexametasona

Liddle en 1960 ideó una prueba de supresión con dexametasona basándose en los mecanismos de regulación de la secreción del cortisol.

La administración de dexametasona es detectada por los receptores - hipotalámicos, que dejan de estimular a la hipófisis y disminuye o se anula la secreción de ACTH con lo que desciende la producción de cortisol y la eliminación de sus metabolitos en orina.

Liddle después de recoger una basal para 17-OHCS urinarios, administra 0,5 mg cada 6 h. (2 mg/día), durante dos días consecutivos con lo cual los sujetos normales y los obesos disminuían en un 50% ó más la eliminación de 17-OHCS urinarios, pero no había variación si se trataba de un Cushing. Los dos días siguientes daba 2 mg. cada 6 horas (8mg/día); si el Cushing era por hiperplasia se observaba supresión de los 17-OHCS urinarios; pero no había modificación si la etiología del Cushing era un adenoma o un carcinoma.

Esta prueba también se puede realizar midiendo el cortisol en plasma al final de un goteo de 3 mg. de dexametasona de tres horas de duración (James, Landon y Wynn, 1965) con lo que en los sujetos normales se podrá observar una reducción aproximada de un 60%, mientras que no ocurre así en los pacientes con Cushing por hiperplasia.

En 1965 Nugent, Nichols y Tyler, basados en experiencias anteriores que demostraban la acción supresiva de la dexametasona sobre el cortisol plasmático matutino, con efecto máximo si se administraba la noche anterior, idearon una prueba rápida de gran utilidad en la clínica para pacientes ambulatorios, ya que administrando entre 11 y 12 de la noche 1 mg. de dexametasona oral, y con una sola extracción de sangre, a las 8 de la mañana siguiente, permiten separar los sujetos normales y los obesos, cuyo cortisol será menor de 5 μ g/100 ml. o en todo caso no superior a 10 μ g, pero mayor de 20 μ g en los casos de síndrome de Cushing. Puede haber falsos positivos (que no se suprimen) entre enfermos graves con

intenso stress, o en pacientes en tratamiento con estrógenos.

Simultáneamente, en el mismo mes (agosto) y en el mismo año, Pavlatos Smilo y Forsham, publican una prueba idéntica con resultados similares en normales, obesos y Cushing. En 5 casos de Cushing por adenoma no había - ninguna respuesta, y en 2 casos de carcinoma las basales eran mayores (62 y 76 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) y la respuesta también nula. A pesar de la aparición simultánea de ambos trabajos, Pavlatos y col. mencionan que se basaron en - un trabajo anterior de Nugent y col. por lo que es a estos a quienes corresponde la paternidad de la prueba, cuya validez ha sido confirmada posteriormente por Tucci y col. (1967), McHardy-Young y col. (1967), Bricaire y col. (1967), Asfeldt (1969) etc.

Esta prueba rápida es de gran utilidad clínica, pues permite descartar una hiperfunción suprarrenal en todo sujeto con respuesta del cortisol plasmático, inferior a 5 μg . Si la supresión no llega a tales límites, - entonces habrá que estudiar más detenidamente al paciente.

Esta prueba de Nugent y col. (1965), puede fallar en los pacientes que toman hidantoinas (Asfeldt y Buhl, 1969) y en enfermos psiquiátricos con depresión intensa (Carroll y col. 1968) sin que se haya podido encontrar una relación entre la falta de respuesta y las características clínicas - de la depresión (Carroll y col. 1970). También puede ser negativa la supresión en algunos pacientes con cáncer de pulmón (Kawai y col. 1969), en la hipertensión vasculo-renal (Cade y col. 1967), en la anorexia nerviosa o en personas que toman anovulatorios (Asfeldt, 1969).

3.- Estímulo indirecto de la secreción del cortisol a través del eje SNC-Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenales.

En 1958 y en 1959, Liddle y col. presentaron la prueba de la metopirona como método indirecto de exploración de la reserva hipofisaria.

Posteriormente han surgido otras pruebas similares, pero con algunas diferencias entre sí, pues mientras unas actúan estimulando al sistema - nervioso central (stress, hipoglucemia, pirógenos), otras lo hacen a nivel hipotalámico a través del servomecanismo (Metopirona) y otras como la Li-

sina-8-Vasopresina, actúan preferentemente facilitando la salida del ACTH hipofisario a la circulación general (Landon y col. 1965).

A continuación se detalla cada una.

a) Metopirona.: La metopirona, metirapona o SU-4885 inhibe la 11- β -hidroxilasa, disminuyendo notablemente la síntesis de cortisol y bajando su nivel sanguíneo; con ello se estimulan los centros hipotalámicos correspondientes que segregan CRF y aumenta la secreción de ACTH hipofisario, con la finalidad de aumentar la síntesis de cortisol que no tiene lugar por el bloqueo a nivel de la 11-hidroxilasa, por lo que aumentan notablemente en plasma sus precursores especialmente el 11-desoxicortisol, y también la eliminación de sus metabolitos en orina como 17-OHCS.

La prueba primitiva (Liddle y col. 1959) consiste en administrar - oralmente 500 a 750 mg. de Metopirona cada 4 horas durante un día, midiendo los 17-OHCS urinarios (o los 17-esteroides cetogénicos) el día anterior, el de la prueba y el posterior. Normalmente el aumento de los esteroides urinarios se duplica el día de la prueba o el día siguiente en que corrientemente el aumento es algo mayor.

También se puede realizar administrando 500 mg de Metopirona oral c/6 h. durante dos días, con resultados semejantes. Si en la orina se miden directamente los derivados 11-desoxicorticosteroides, se puede ver mejor la respuesta a la metopirona (Henke y col. 1960; Kaplan, 1963, a y b; Jubiz y col. 1970, a).

Gold y col. (1960 a 1961), ponen la metopirona en goteo i.v. de 4h. en 1.000 ml. de suero salino, a razón de 30 mg. por kg. de peso; comienzan a las 9 - 10 de la mañana. Miden los 17-OHCS ó los 17-esteroides cetogénicos, que por lo menos se duplican el día de la prueba. Estiman que el goteo i.v. es más eficaz que la administración oral; también es mejor medir los 17-esteroides cetogénicos urinarios, pues en ellos se incluyen más derivados 11-desoxicorticoides que si se miden los 17-OHCS.

Rudd y col. (1963) utilizan como parámetro de la prueba i.v. en goteo de 2 horas, el rebote del cortisol plasmático medido fluorimétricamente, 4 horas después de finalizado el goteo. Carece de especificidad, puesto que la subida del cortisol plasmático hasta el valor inicial, puede ser

debida tanto al aumento de ACTH como a la desaparición del efecto inhibitorio de la metopirona una vez finalizada su infusión i.v.

Si se quiere ver la respuesta en plasma hay que medir ACTH (Landon y Greenwood, 1968; Jubiz y col. 1970, a y b), los 17-OHCS (Liddle y col. 1959; Framer y col. 1961) o mejor que los 17-OHCS el propio 11-desoxicortisol (Gold y col. 1960, b; Farmer y col. 1961) que aumenta más de 7 mg. con la metopirona, siendo mayor el aumento por vía oral que i.v. (Kaplan, 1963 a y b; Strott y col. 1969; Meikle y col. 1969; Jenkins y col. 1964).

Jubiz y col. (1970, b) han medido directamente el aumento del ACTH - en plasma (sube a 750 μ g/ml) y del 11-desoxicortisol en plasma (de 2 μ g sube a 15 μ g/100 ml), y en orina, observando que el aumento de ACTH es - mayor con la metopirona oral, y si se realizan las determinaciones a diferentes intervalos de tiempo la respuesta es mayor en las primeras horas de la mañana, como expresión lógica del ritmo circadiano de ACTH. Por ello proponen realizar la prueba con una dosis única de metopirona oral (30mg/kg = 2,03 g.) a las 12 de la noche, midiendo el ACTH o el 11-desoxicortisol plasmático a las 8 de la mañana del día siguiente; si se miden los 11 desoxicorticoides en orina, la recogida se efectuará 24 horas antes de la administración de metopirona y 24 horas después (Jubiz y col. 1970, a).

Ya sea de una u otra forma, pero preferentemente midiendo los 11-desoxicorticosteroides en plasma u orina, se observará un fallo de la respuesta en las hipofunciones hipofisarias (Liddle y col. 1959, etc.), en algunos hipotiroidismos primarios (Gold y col. 1960, a ; Kaplan, 1963, b; Cushman, 1968, a), a veces en los tumores hipofisarios según el grado de afectación de las células corticotrofas (Liddle y col. 1959; Kaplan, 1963, b), y en los Cushing por adenoma o carcinoma suprarrenal (Liddle y col. - 1959; Gold y col. 1960, a; Gold y col. 1961; Meikle y col. 1969). Por el contrario puede haber una respuesta exagerada en los Cushing por hiperplasia (Liddle y col. 1959; Gold y col. 1960, a; Gold y col. 1961).

Hay que tener en cuenta que la clorpromazina puede inhibir la respuesta a la metopirona (Gold y col. 1960, a) y por supuesto nunca habrá respuesta si existe una hipofunción suprarrenal primarias.

b) Pirógenos.: En 1957 Wexler y col. demostraron en la rata que un pirógeno ("Piromen") provocaba signos corticales que sugerían un aumento del ACTH a través de un estímulo hipotalámico.

Melby (1959, b) empleó otro pirógeno ("Pirexal") para el diagnóstico de la hipofunción hipofisaria puesto que en esos casos no se producía aumento del cortisol plasmático o era menor de lo normal (duplicación al menos de los valores iniciales).

El efecto de los pirógenos sobre el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales ha sido estudiado posteriormente por muchos autores.

Unos utilizan "Piromen" que es un polisacárido bacteriano de pseudomonas, a la dosis de 0,5 µg/kg de peso (Frohman y col. 1967); y otros - emplean el "Pirexal" o "Lipexal" que es un lipopolisacárido de "Salmone-lla abortus equi", a la dosis de 2,0 µg/Kg. de peso (Kimball y col. 1968). Ambos se inyectan en vena directamente en 2-3 mín.; la respuesta del cortisol plasmático se suele medir 4 horas más tarde ya que suele ser el momento de máximo aumento correspondiendo a 15 µg/100 ml. o sea que se duplica la concentración inicial. La respuesta es similar con ambos tipos de pirógenos (Tabla II-4).

La mayoría de los autores efectúan la prueba a las 9 de la mañana, aunque se consigue una respuesta mayor si se realiza a las 5 de la tarde y mayor aún a las 11 de la noche (Takebe y col. 1966).

Durante la prueba se produce un aumento de la temperatura alrededor de 1,2° C, más o menos paralelo al aumento del cortisol plasmático. También aparece una serie de efectos secundarios como escalofríos, malestar, cefalea y dolores musculares. La respuesta del cortisol es independiente de la fiebre, pues se puede producir ésta con etiocolanolona sin que aumente el cortisol plasmático (Kimball y col. 1968). También se puede dar aspirina al comienzo o durante la prueba, sin que ésta se altere (Jenkins y col. 1963; Carroll y col. 1969, a). Sin embargo la relación de la respuesta del cortisol con la elevación de la temperatura es sustentada por otros autores como Miller y Moses (1968).

RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON PIROGENOS EN INY. I.V.

A u t o r e s	Pírógeno	Dosis	Nº	Inicial	Cortisol en plasma µg/100ml	
					a las 4horas	Aumento
Farmer y col. 1961	Lipexal	0,5 µg	21	14,4	31,1	+ 16,7
Kimball y col. 1968	Lipexal	2,0µg/Kg.	5	6,8	19,2	+ 12,4
Carroll y col. 1969 (a)	Lipexal	1,0 µg	30	20,0	42,0	+ 22
Jenkins y Elkington, 1964	Pirogen	0,005µg/kg.	14	12,2	27,5	+ 15,3
Frohman y col. 1967	Piromen	0,5 µg/Kg.	10	15,9	38,7	+ 13,8
Kohler y col. 1967	Pirogen	0,6 µg/Kg.	17	11,3	33,8	+ 22,5
Kimball y col. 1968	Piromen	0,5 µg/Kg.	5	12,3	22,8	+ 10,5
Miller y col. 1968	Piromen	0,5 µg/Kg.	12	20,8	37,4	+ 16,6

== :: == :: == :: == :: == :: == :: == :: == ::

TABLA II - 5

RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO DE LA HIPOGLUCEMIA INSULINICA

<u>A u t o r e s</u>	<u>Insulina</u>		<u>Cortisol en plasma $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$</u>		
	<u>U/Kg.</u>	<u>Nº</u>	<u>Inicial</u>	<u>a los 60 min</u>	<u>Aumento</u>
Landon y col. 1963	0,10	8	10,1	13,6	+ 3,5
Kaplan y col. 1963 (b)	0,10	5	-	-	+ 18,5
Greenwood y col. 1966	0,10	6	10,0	25,0	+ 15,0
Carroll y col. 1969 (a)	0,10	18	15,5	31,5	+ 16,1
Takebe y col. 1969	0,10	6	11,9	20,1	+ 8,2
Laron y col. 1969	0,10	56	10,3	24,1	+ 13,8
Landon y col. 1963	0,15	12	8,5	21,1	+ 12,6
Greenwood y col. 1966	0,15	6	13,6	32,3	+ 18,7
Bethge y col. 1967 (a)	0,15	17	13,4	25,3	+ 12,1
Shenkin y col. 1970	0,15	22	13,7	35,3	+ 21,6

$$\frac{1}{\sqrt{\pi}} \left(\frac{1}{x} + \frac{1}{y} \right) = \frac{1}{\sqrt{\pi}} \left(\frac{1}{x} + \frac{1}{y} \right)$$

El efecto sobre el cortisol plasmático es precedido de un aumento en la concentración plasmática de ACTH, como ha sido comprobado por Takebe y col. (1966) en la prueba efectuada a las 11 de la noche.

Simultáneamente al efecto ACTH estimulante, los pirógenos elevan la concentración plasmática de la hormona del crecimiento, más con "piromen" que con "lipexal" (Kimball y col. 1968) pero el máximo incremento sucede 2 horas después del estímulo y no a las 4 horas como el cortisol.

Sin embargo otras hormonas tróficas hipofisarias como la LH y TSH - no varían, luego el efecto de los pirógenos no es inespecífico sobre todos los centros hipotalámicos sino selectivo sobre los que regulan las secreciones de ACTH y GH (Kohler y col. 1967).

El efecto de los pirógenos sobre el cortisol no se bloquea por la morfina (Jenkins y col. 1968).

La prueba de los pirógenos tiene otro significado que la de metopirona o la Lisina-Vasopresina, como se verá más adelante. Pero esencialmente sirve en la clínica para diferenciar los normales que responden con una elevación del cortisol plasmático mayor de 7 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (de 3 a 40 μg con una media de 12 a 20 μg según los autores (Tabla II-4), duplicando en general la concentración inicial, de las hipofunciones hipofisarias e hipotalámicas que no responden al estímulo de los pirógenos o lo hace débilmente (Melby 1959,b; Farmer y col. 1961; Jenkins y col. 1964; Frohman y col. 1967; Kohler y col. 1967).

c) Hipoglucemia.: La hipoglucemia se ha utilizado desde hace unos años para conocer la integridad del sistema hipotálamo-hipófisis-suprarrenales, basándose en el stress producido por la intensidad y duración de la hipoglucemia insulínica que debe descender a menos de 40 $\text{mg}/100\text{ml}$. para que sea efectiva (Landon, Wynn y James, 1963).

La insulina se inyecta i.v. a una dosis de 0,15 U/Kg. de peso, aunque en las hipofunciones hipofisarias y en sujetos desnutridos suelen bastar 0,10 U./Kg. y en las acromegalias o Cushing suelen necesitar 0,30 U./Kg.

(Landon y col. 1968). En sujetos normales la respuesta es mayor si se -
inyecta 0,15 U. en lugar de 0,10 (Greenwood y col. 1966). Permite conocer
la integridad de las conexiones S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenales
a través de mecanismos diferentes a la servorregulación de los aumentos
o disminuciones del cortisol plasmático.

Normalmente la respuesta mayor es a los 60 minutos (a veces a los
90 min.) momento en el que el cortisol es 2,5 veces el valor inicial con
un aumento de 12,8 µg sobre el mismo, (Landon y col. 1963). Se considera
subnormal el que no experimenta un aumento del cortisol plasmático supe-
rior a 5 µg o no sobrepasa las 25 µg en el curso de la prueba (Carrol y
col. 1969,a) Ver la tabla II-5 para estos resultados y los de otros auto-
res (Laron y col. 1969; Shenkin y col. 1970).

El aumento del cortisol plasmático es mayor si la prueba se efectúa
por la noche (Takebe y col. 1969).

En los hipopituitarismos y disfunciones hipotalámicas, la respuesta
es nula o subnormal (Landon y col. 1963; Kaplan y col. 1963; Bethge y col.
1967, b; Jenkins y Else, 1968; Laron y col. 1969).

También puede ser baja la respuesta en pacientes con depresión inten-
sa, normalizándose la prueba paralelamente a la mejoría clínica (Carroll
y col. 1969, b), y en el síndrome de Cushing por hiperplasia suprarrenal
(Landon y col. 1965, b) o por adenoma (Bethge y col. 1969).

Como es natural, la elevación del cortisol en plasma es precedida
por un aumento del ACTH plasmático como han demostrado Landon y col. -
(1968).

Esta prueba esta contraindicada en pacientes epilépticos o cardíacos.
Siempre se debe hacer con precaución y tener a mano glucosa para inyectar
la i.v. si fuera necesario.

d) Lisina-8-Vasopresina.: La vasopresina posee una acción liberado-
ra del ACTH hipofisario demostrable por la depleción de ácido ascórbico-
suprarrenal. Fundándose en ello McDonald y Weise (1956) encontraron un
aumento de 15 µg en los 17-OHCS plasmáticos, a continuación de una infu

sión de 2 horas de Vasopresina.

Más tarde (Clayton y col. 1963) han utilizado dos análogos sintéticos (el CRA-41 y la Lisina-3-Vasopresina) en dosis equivalente a 4 U. de vasopresina observando un aumento notable del cortisol en plasma que es mayor si la prueba se efectúa a media tarde (8 μ g de aumento) o a la media noche (11 μ g de aumento) en relación con los niveles bajos del cortisol en plasma y el aumento de la reserva de ACTH hipofisaria a esas horas. Parecidos son los resultados de Librik y Clayton (1963) en 11 normales en prueba efectuada a primeras horas de la tarde. Landon y col. (1965,b) efectúan la prueba con Lisina-8-Vasopresina 10 U. en infusión i.v. de 2 horas, observando un aumento de 13,1 μ g (de 5,6 a 33,5 μ g) en 19 normales al final de la infusión, y Gwinup (1965,b) la realiza a igual dosis pero inyectándola i.m. en el deltoides, con máximo efecto 1 hora después (subida del cortisol a 36 μ g con aumento medio de 23 μ g). Similares son los resultados de Carroll y col. (1969) utilizando inyección i.v. directa de 5 U. de L-Vasopresina. En los niños también se ve una respuesta similar (Van der Wal y col. 1965).

Al parecer el mismo efecto se puede conseguir con la Vasopresina (Czarny y col. 1968). Pero parece que ni la vasopresina ni la L-Vasopresina son los auténticos CRF naturales (Yates y Urquhart, 1962), o por lo menos el único pues en pacientes con diabetes insípida congénita o en las idiopáticas se conserva sin alteración el mecanismo de secreción del ACTH (Mess y Martini, 1968; Cushman, 1968, b).

Brostoff, James y Landon (1968) han estudiado ampliamente este tipo de prueba observando que el mismo efecto se obtiene por vía i.v. que por vía i.m., siendo la máxima respuesta a los 60 min. No encontrando diferencias entre el efectuar la prueba por la mañana o por la tarde. La vía s.c. no sirve.

La acción estimulante suprarrenal de la L-Vasopresina se ejerce a través de la hipófisis como lo demuestra el aumento plasmático del ACTH, previo al del cortisol (Strott y col. 1967; Gwinup y col. 1967; Takebe y col. 1968; Landon y Greenwood, 1968). No actúa sobre las suprarrenales directamente pues carece de acción en el animal hipofisectomizado, aunque a

grandes dosis puede observarse cierta respuesta. El hecho de bloquearse su acción por la morfina indica que su acción se ejerce directamente sobre la hipófisis (Gwinup, 1965, a), pero también la dexametasona inhibe su acción lo que hablaría más a favor de un mecanismo hipotalámico como parece haber demostrado Hedge y col. (1966).

En los pacientes con hipofunción hipofisaria no hay respuesta a la Lisina-8-Vasopresina (Gwinup, 1965, b; Landon y col. 1965). En los tumores hipofisarios y periselares puede darse todo tipo de respuestas (Landon y col. 1965, b; Gwinup, 1965, b; Jenkins y col. 1968) según el grado de afectación del ACTH.

Esta prueba serviría por una parte para el diagnóstico de las hipofunciones adrenales hipofisarias, y por otra para diferenciar las alteraciones que ocurren a nivel del hipotálamo (respuesta nula a metopirona, pirógenos e hipoglucemia, con respuesta normal a la L-Vasopresina) de las situadas en la misma hipófisis en que fallarían todas las pruebas mencionadas (Landon y col. 1965, b; Bethge y col. 1967, b) aunque no siempre está todo tan claro, pudiéndose encontrar respuestas nulas a la L-Vasopresina y normales a los pirógenos (Carroll y col. 1969), a la neumeencefalografía (Jenkins y Else, 1968) o a la metopirona (Tucci y col. 1968).

Una de sus utilidades mayores puede ser para la diferenciación etiológica del síndrome de Cushing, ya que hay buena respuesta (aumento exagerado del cortisol plasmático) en los casos de hiperplasia suprarrenal con tumor hipofisario demostrable o no, y falla la estimulación si la etiología es un adenoma suprarrenal (Webb-Peploe y col. 1967; Bethge y col. 1969).

En los casos de síndrome de ACTH ectópico puede no haber respuesta (Webb-Peploe y col. 1967) o ser exagerada (Strott y col. 1967). Si es un carcinoma suprarrenal no responderá al estímulo, igual que sucedía con el adenoma (Tucci. y col. 1968).

Esta prueba no suele producir cambios en el pulso ni T.A., pero ocasiona efectos secundarios algo desagradables como calor facial, dolor abdominal, hipermotilidad intestinal, náuseas, palidez generalizada y a veces necesidad de defecar. Puede acompañarse de vasoconstrucción corona-

ria por lo que esta contraindicada en enfermos coronarios o con hipertensión arterial, aunque en realidad no se han encontrado cambios notables en el ECG ni en la T.A. durante las pruebas (Brostoff y col. 1968).

e) Comentario a estas pruebas.: En el control de los niveles del cortisol en plasma, tan fundamentales para la vida humana, intervienen una serie de conexiones cada vez más complejas, según se van conociendo, que comprenden al sistema nervioso central, hipotálamo, hipófisis y suprarrenales.

Así como con la administración de ACTH se puede conocer la reserva funcional de la corteza suprarrenal, las pruebas que se han mencionado pretenden con su realización aportar datos sobre la reserva funcional del eje S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis. Todo ello de una forma indirecta y tentativa hasta tanto se desvelen los mecanismos íntimos de esas conexiones y las sustancias, factores u hormonas que intervienen en cada paso (James y Landon, 1968).

La metopirona al inhibir la síntesis del cortisol, permite conocer el funcionamiento del sistema de servorregulación o "feed-back" que regula en condiciones normales la secreción de ACTH y de cortisol. Tendría el mismo significado que la prueba de supresión con dexametasona pero a la inversa, pues la administración de dexametasona pretende inhibir los centros hipotalámicos cortisol-sensibles, mientras que la metopirona los estimula al disminuir los niveles del cortisol plasmático.

Las pruebas de pirógenos y de la hipoglucemia insulínica actúan a un nivel superior, sin cambios previos en las concentraciones del cortisol plasmático, y requieren para una respuesta normal el funcionamiento del sistema neuroendocrino anterior al hipotálamo, además de éste y la hipófisis.

La vasopresina y la Lisina-8-Vasopresina, son capaces de liberar ACTH de la hipófisis por un mecanismo directamente ejercido sobre ella, (Landon y col. 1965, b). Si esto fuera así realizando estos tres tipos de pruebas se podrían localizar las lesiones en el eje S.N.-Hipotálamo Hipófisis, de la siguiente forma:

-Lesión hipofisaria: fallan todas estas pruebas.

-Lesión hipotalámica: fallan todas las pruebas excepto la de L-Vasopresina.

-Lesión en el S.N.C. o sus conexiones con el hipotálamo: Fallan las pruebas de pirógenos, hipoglucemia y stress, permaneciendo normales la de metopirona y de Lisina-Vasopresina.

Sin embargo esas suposiciones no son ciertas, al menos tomadas al pie de la letra. Así desde el comienzo de estas pruebas se pudo observar cierta discordancia entre las pruebas de metopirona y de pirógenos, fallando la primera con más frecuencia que el estímulo de los pirógenos (Van Wyk y col. 1960; Oppenheimer y col. 1961; Jenkins y Elkington, 1964; Aarskog y col. 1965; Frohman y col. 1967) cosa que se interpretó sugiriendo distintos mecanismos de acción para cada una: la metopirona actúa a través del mecanismo de servorregulación, y los pirógenos, hipoglucemia y stress a través de mecanismos neuroendocrinos en lo que interviene el S.N.C. También se admite la explicación de que los pirógenos ponen en marcha un mecanismo de excitación más potente que la metopirona (Oppenheimer y col. 1961; Jenkins y Elkington, 1964; Jenkins y Else, 1968; Jenkins y col. 1969).

Los pirógenos e hipoglucemia servirían mejor para conocer la adaptabilidad de un paciente determinado a las intervenciones quirúrgicas, p. ej. uno que haya sido tratado con corticoides, o se sospeche un hipopituitarismo (Brinck-Johnsen y col. 1963).

Sin embargo la metopirona permite conocer mejor las pequeñas hipofunciones del eje hipotálamo-hipofisario (Brinck-Johnsen y col. 1963).

En la Lisina-Vasopresina se pusieron muchas esperanzas como detectora de las lesiones localizadas en la hipófisis (Landon y col. 1965), pero posteriormente su mecanismo de acción ha sido interpretado como hipotalámico a causa de la negatividad de esta prueba mientras que eran normales la metopirona (Tucci y col. 1968) o los pirógenos (Carroll y col. 1969, a) y basándose en los estudios experimentales de Hedge y col. (1966), por lo que esas esperanzas se han desvanecido, pero solo en parte, pues es una prueba rápida con relativamente pocos efectos secundarios, más sencilla que los pirógenos e hipoglucemia, y que se ha demostrado sirve muy bien

para el diagnóstico etiológico del Cushing (Webb-Peploe y col. 1967; - Tucci y col. 1968; Bethge y col. 1967, b y 1969).

En la práctica en los sujetos normales las pruebas de Lisina-Vasopresina, pirógenos e hipoglucemia, dan resultados similares (Carroll y col. 1969, a ; Shenkin y col. 1970). Pero en los pacientes con endocrinopatías que afectan al eje hipotálamo-hipofisario lo mismo se encuentran unos que responden a los pirógenos y fallan ante la L-Vasopresina, que viceversa. También se pueden hallar pacientes con buena respuesta a la hipoglucemia y nada a la L-Vasopresina (Carroll y col. 1969, a), o al contrario, como sucede en el síndrome de Cushing por hiperplasia suprarrenal (Landon y col. 1965, b).

En general las pruebas de hipoglucemia y pirógenos son superponibles en todos los pacientes, aunque a veces unos respondan mejor a una de ellas lo que podría hacer pensar que actúen por caminos diferentes (Landon y col. 1965). Hay que tener en cuenta también fallos técnicos de diversa índole. Así la dosis de insulina debe ser la necesaria para bajar la glucemia a menos de 40 mg %, cosa fácil de conseguir en sujetos normales y más aun en los hipopituitarismos, pero es más difícil y hay que aumentar la dosis en las acromegalias y Cushing, por lo que a veces la prueba puede darse como falsamente negativa. También el simple hecho de la punción venosa para la extracción de sangre puede elevar el cortisol en plasma y la elevación posterior al estímulo (pirógenos, etc.) puede quedar enmascarada; por eso se recomienda efectuar las extracciones a través de un cateter venoso permanente que se debe colocar ya media hora antes de comenzar la prueba. La Lisina-Vasopresina no debe inyectarse subcutánea, - pues su efecto es menor.

El hecho de que la mayoría de los autores realicen estas pruebas por la mañana, puede dar falsos negativos, ya que el incremento mayor ocurre efectuando el estímulo a media tarde o por la noche.

Se dice que la prueba de los pirógenos parece la más potente, en el sentido que es la que menos fallos tiene (Jenkins y Else, 1968; Carroll y col. 1969, a), así p. ej. en casos de negatividad de las otras pruebas se ha observado una buena respuesta del cortisol plasmático durante la

práctica de una neumoencefalografía, similar a la obtenida con los pirógenos (Jenkins y Else, 1968).

Ciertas drogas o medicaciones pueden alterar este tipo de pruebas. Así la morfina y la dexametasona inhiben la respuesta a la Lisina-Vasopresina (Gwinup, 1965, a), pero la morfina no interfiere con la acción de los pirógenos (Jenkins y Else, 1968). La clorpromazina puede inhibir la respuesta a la metopirona (Gold y col. 1960, a).

Por supuesto que todas estas pruebas fallarán siempre que exista - una hipofunción suprarrenal primaria.

Probablemente en el curso de pocos años se puedan conocer mejor los mecanismos íntimos de las conexiones S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis, así - como los factores u hormonas que intervienen en ellos. Cuando esto suceda podrán explicarse mejor estas pruebas, así como el por qué de sus - fallos.

Mientras tanto, es aconsejable realizar al menos dos de ellas o repetir la misma antes de diagnosticar una alteración del sistema. En el - caso de realizar solamente una, quizá la mejor sea la de los pirógenos, siempre que se disminuyan los efectos secundarios con aspirina. Pero dura 4 horas, y es una desventaja ante la Lisina-Vasopresina que se termina en 1 hora, o la de hipoglucemia insulínica que se termina en 60 ó 90 mín, aunque estas dos pruebas también presenten otros tipos de efectos - secundarios y sus correspondientes contraindicaciones.

Como conclusión, hoy día se prefiere la L-Vasopresina por vía i.m. a la dosis de 10 U.

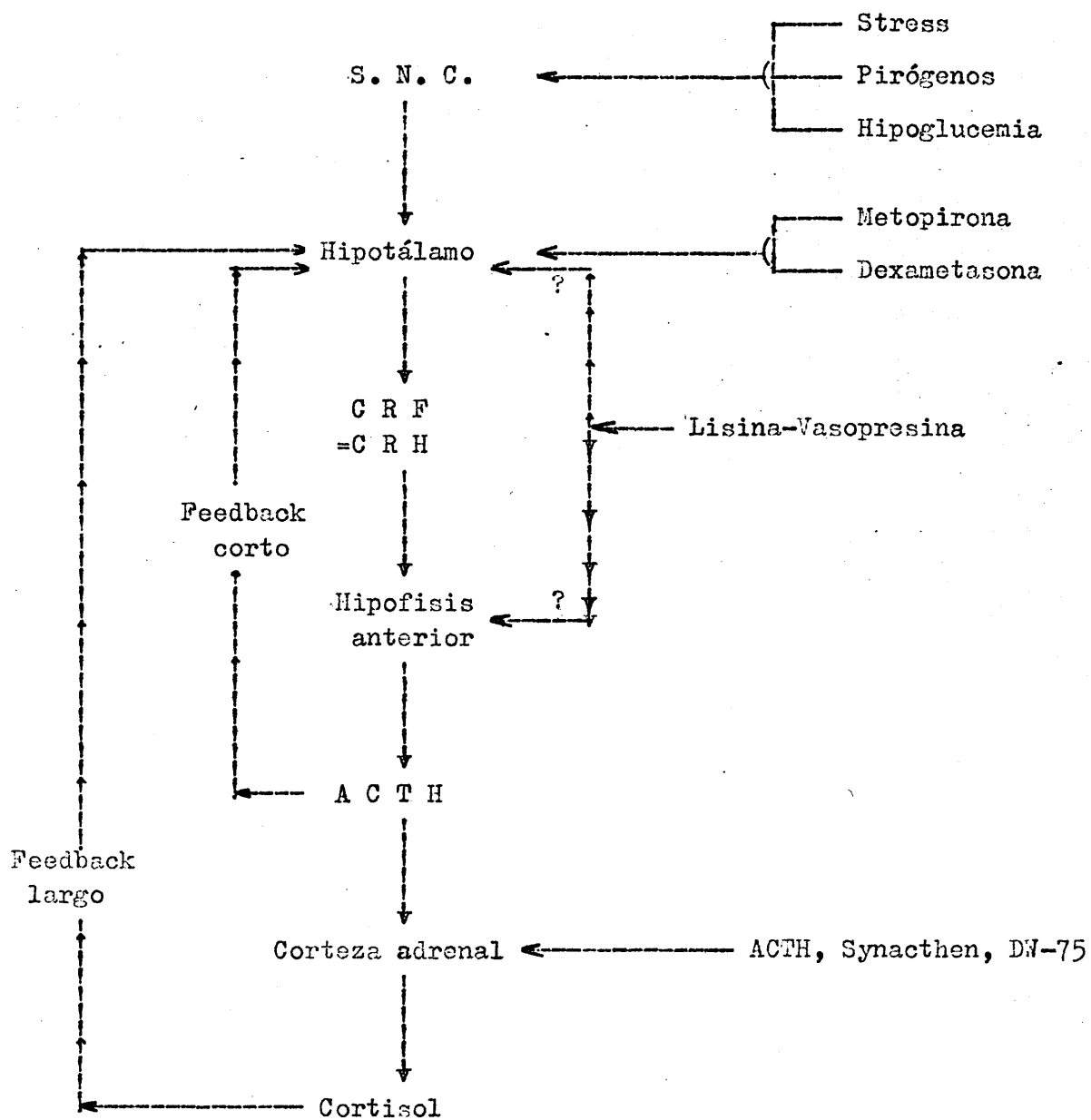
También se pueden buscar otras sustancias capaces de estimular el sistema hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y que carezcan de los inconvenientes de las actuales. Los salicilatos parece ser que estimulan este sistema, pero no sirven como prueba rápida (Done y col. 1958; Wan - Cauwenberge, 1957-58).

Sustancias colinérgicas y adrenérgicas implantadas en el hipotálamo estimulan la salida del ACTH hipofisario (Krieger y Krieger, 1967). Las anfeteminas se pueden utilizar en este sentido especialmente por vía i.v. (15 mg) con lo que se consiguen aumentos del cortisol de 14 μ g/100 ml. de

plasma (Besser y col. 1969) precedidos de una elevación del ACTH plasmático.

Como resumen final, se puede decir que las pruebas dinámicas del eje S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis, no están aun establecidas de forma bien definida, pues las empleadas actualmente se realizan empíricamente y se acompañan por lo general de reacciones secundarias innecesarias para el desarrollo de la prueba y molestas para el paciente. Pero en la práctica clínica son útiles y dan informes valiosos sobre el eje SNC-Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenales.

En la gráfica II-3, tomada de Landon y col. (1965,b) y de James y Landon (1968) con ligeras modificaciones, se pueden ver los diferentes pasos en la regulación de la secreción del cortisol, y los supuestos lugares en que actúan las sustancias empleadas en las pruebas que se han descrito.





METODOS EXISTENTES PARA LA DETERMINACION

DEL CORTISOL EN PLASMA

METODOS EXISTENTES PARA LA DETERMINACION

DEL CORTISOL EN PLASMA

A. GENERALIDADES.

La identificación de los esteroides suprarrenales ha sido difícil y costosa a causa de sus pequeñas concentraciones en sangre y de la cantidad limitada de plasma disponible para los análisis.

Las concentraciones mayores de esteroides se hallan en la vena suprarenal, y de ella es de donde en primer lugar se han ido aislando los esteroides conocidos, primero aprovechando las intervenciones quirúrgicas de la región retroperitoneal, y más tarde utilizando las técnicas de cateterismo selectivo.

Como las concentraciones en sangre periférica son del orden de microgramos o menores, de ahí la importancia de evitar todo tipo de contaminación que puede interferir de una u otra forma con los métodos empleados.

Es importante realizar siempre las extracciones bajo las mismas condiciones. En ayunas, a primera hora de la mañana, para que no influyan - las variaciones del ritmo circadiano, a no ser que se busquen expresamente, utilizando siempre el mismo coagulante, separando los plasmas lo más pronto posible y guardándolos en nevera a baja temperatura o mejor congelados si se ha de tardar algún tiempo en realizar su determinación.

El emplear suero en lugar de plasma no parece ser conveniente, pues a pesar de que algunos investigadores no hayan observado relación de las hemáties con el cortisol, otros sí como Wu y Mason (1958) y Kornel y col. (1970). Estos últimos encuentran que del cortisol 4-¹⁴C inyectado, un 14-20% se fija a los hemáties, en parte débilmente a su superficie y algo más de la mitad en unión más firme. Como además no sabemos los cambios que pueden ocurrir durante la formación del coágulo, es más prudente uti

lizar plasma que suero, aunque algunos investigadores no hayan encontrado diferencias entre ambos líquidos orgánicos (Braunsberg y James, 1961).

Desde siempre se ha utilizado la heparina como anticoagulante, pero a veces se han utilizado también el citrato u oxalato. Sin embargo el citrato interfiere con el método colorimétrico de Nelson y Samuels, y la heparina que lleva alcohol bencílico eleva falsamente las lecturas de los métodos fluorimétricos (Werk y col. 1967), especialmente si luego se emplea diclorometano que contenga impurezas (Kendall y col. 1968).

La separación del plasma de la sangre heparinizada se aconseja hacer la inmediatamente después de la extracción fundándose en la posibilidad de que las células sanguíneas puedan fijar cortisol si se deja estar la sangre algún tiempo. Sin embargo De Moor y col. (1960) conservan la sangre oxalatada o heparinizada durante la noche a 4°C y no hallan variación; - tampoco Wu y Mason (1958) encuentran cambios después de 48 h. en nevera.

Después de separar el plasma, puede ser conservado unos días en re-frigerador o durante un mes a -15°C. sin pérdida de actividad del esteroide (Lewis, 1957).

En la sangre circulante el cortisol puede detectarse en tres formas: libre o nativo, unido a las proteínas (fundamentalmente a la CBG) y conjugado con el ácido glucurónico y otros. Corrientemente los métodos emplea-dos miden el cortisol libre más el unido a las proteínas, siempre que no se especifique otra cosa.

Los derivados conjugados también se pueden medir (Bongiovanni y col. 1954; Cohn y Bondy, 1959) pero su determinación tiene mucho menos interés y no se realiza actualmente más que en casos especiales.

Según Braunsberg y James, cuya revisión de 1961 sigue vigente en muchos aspectos, todas las metódicas empleadas para la determinación de los corticoides en plasma utilizan un primer paso de extracción con diversos solventes orgánicos (cloroformo, diclorometano, benceno, tetracloruro de carbono, etc.) seguido de una purificación por partición en mezcla de dos solventes o por cromatografía en columna. Si se quieren separar entre sí los diversos esteroides plasmáticos, se realiza a continuación por diversos métodos cromatográficos en columna o en papel. Finalmente la deter

minación se puede hacer de varias formas:

1.- Absorción de luz ultravioleta a 240 μ , característica del cortisol, corticosterona y otros esteroides como la aldosterona, progesterona y testosterona. Tiene el inconveniente de necesitar una gran purificación previa y la facilidad con que otras sustancias interfieren con la absorción en esa región.

2.- Método polarográfico de Morris y Williams (1953) capaz de identificar el cortisol, cortisona, corticosterona y 11-dehidrocorticosterona. También necesita una purificación previa muy cuidadosa.

3.- Métodos colorimétricos fundamentados la mayoría en la reacción de Porter y Silber (1950) del grupo 17,21-dihidroxi-20 cetónico con la solución de fenil-hidrazina en ácido sulfúrico. Otros han utilizado la reacción con azul de tetrazolio de Mader y Buck (1952), que es mucho menos específica y da valores el doble o más que por otros métodos (Wu y Mason, - 1958).

4.- Fluorescencia en medio ácido o alcalino, que gracias al uso de fotomultiplicadores permiten trabajar con cantidades muy pequeñas de plasma.

5.- Métodos isotópicos, ya sea el esteroide o el reactivo la sustancia marcada o ambos.

Los métodos basados en la absorción ultravioleta a 240 μ , el colorimétrico del azul de tetrazolio (Mader y Buck, 1952) y el polarográfico de Morris y Williams (1953) han tenido poca aceptación a causa de sus grandes inconvenientes (Wu y Mason, 1958; Braunsberg y James, 1961), y a las ventajas de las otras metódicas. Por ello no se van a considerar en este trabajo.

A continuación se exponen las metódicas empleadas, basadas en los métodos colorimétricos, de fluorescencia e isotópicos, considerando desde los procedimientos más antiguos, ya en desuso, a los actualmente en plena vigencia que unen a la simplicidad de su metódica, la exactitud y especificidad necesarios.

B. MÉTODOS COLORIMÉTRICOS BASADOS EN LA REACCIÓN DE PORTER Y SILBER.

En 1950, Porter y Silber describieron una reacción cuantitativa muy sensible para los 17-21-dihidroxi-20-cetosteroides, que con una solución de fenilhidrazina en ácido sulfúrico, forman una osazona que origina color con absorción máxima a 410 mμ.

Esta reacción la dan el cortisol, cortisona, 11-desoxicortisol y sus derivados dihidro y tetrahidros (Porter y Silber, 1950; Nelson y Samuels, 1952; Silber y Porter, 1954; Peterson y col. 1956; Wu y Mason, 1958).

En cuanto desaparece uno de los grupos alcohólicos en los carbonos 17 ó 21, o el cetónico del C-20, la reacción no se efectúa. Pero no son esenciales para la reacción con fenilhidrazina los grupos del C-11 (cetónico o alcohólico) ni la estructura Δ^4 -3-cetónica. Por eso no dan la reacción de Porter y Silber la corticosterona (le falta el -OH del C-17), ni los cortoles y cortolonas (el C=O del C-20 se ha convertido en C-OH) ni los derivados conjugados. Por la misma razón sí dan la reacción algunos esteroides sintéticos como la prednisona, prednisolona y otros.

Como resulta que el cortisol constituye cerca del 90% de los corticosteroides plasmáticos que dan la reacción de Porter y Silber (Peterson y col. 1955) se puede decir que los valores determinados por ese método miden y reflejan fundamentalmente las concentraciones plasmáticas del cortisol. Sin embargo las pequeñas cantidades de otros esteroides que se incluyen en la reacción hace que muchas veces se hable de cromógenos de Porter-Silber, en lugar de cortisol o también de 17-hidroxicorticoides (17-OHCS) aunque no todos los 17-hidroxicorticoides den la reacción (necesitan también el -OH del C-21 y el =O del C-20).

Con este método pueden interferir los siguientes compuestos: azúcares, ácido ascórbico, aldehidos, cetonas, quinina, colchicina, citrato, ioduro potásico, fenotiazina, clorpromazina, sulfameracina y bilirrubina (Silber y Busch, 1955; Wu y Mason, 1958; Braunsberg y James, 1961); por lo cual si se trata de medicamentos deben suspenderse unos días antes de realizar las extracciones de sangre.

La precisión de los métodos que emplean esta reacción es pequeña - cuando miden niveles bajos de cortisol en plasma, pero aumenta a niveles mayores (Braunsberg y James, 1961).

Los primeros que utilizaron la reacción de Porter y Silber para la determinación de los 17-,21-dihidroxi-20-cetosteroides, fueron Nelson - y Samuels (1952). Para separar los corticosteroides de otras sustancias empleaban el paso por una columna de florisil, y sólo posteriormente - empleaban la reacción con fenil-hidrazina. Emplearon sangre y plasma, - obteniendo unos valores de 4 a 10 μg por 100 ml. de sangre.

Con el mismo método, Bliss y col. (1953) dan valores de 13,0 $\mu\text{g}/100$ ml. en 120 sujetos normales.

Migeon y col. (1956, d) han comparado los resultados del método de Nelson y Samuels con otro que emplea cromatografía en papel, observando resultados similares en varias series de sujetos investigados.

Bondy y Altrock (1953) no utilizan el paso cromatográfico, pero - emplean una serie de particiones entre solventes que hacen disminuir los valores del cortisol plasmático a $7,8 \pm 3,3 \mu\text{g}/100$ ml. en 30 normales.

En 1954 Silber y Porter describen un método basado en su reacción, más sencillo que el de Nelson y Samuels, ya que prescinden del paso por la columna de florisil. De esa forma simplifican notablemente la técnica sin que sufra la validez del método. Da valores de $13,3 \pm 6,2 \mu\text{g}/100$ ml. de plasma. Para el método son necesarios 10 ml. de plasma.

Eik-Nes (1957) ha comparado el método de Nelson y Samuels con el de Silber y Porter, introduciendo un paso por agua-benceno con el objeto de disminuir la fluorescencia inespecífica. Ambos métodos dan resultados si milares, pero para el uso rutinario se inclina a favor del Silber y Porter por su simplicidad.

En 1957, Peterson, Karrer y Guerra hacen una modificación del Silber y Porter en la que tampoco necesitan paso cromatográfico. El método es bas tante sencillo y similar a grandes rasgos con el de Silber y Porter, pero utilizando diclorometano para la extracción, en lugar de cloroformo. Sus valores normales son de $15,0 \pm 4,5 \mu\text{g}/100$ ml. de plasma, variando de 6 a 25 μg en un conjunto de 50 sujetos normales. Solo son necesarios 5 ml. de plasma..

Cuando se trata de medir los 17-OHCS plasmáticos en la prueba de metopirona, la elevación es más marcada y se observa con más claridad si se miden los 11-desoxicorticosteroides del plasma modificando el método de Silber y Porter, tal como lo han hecho Gold y col. (1960, b) ó Kaplan (1963, a).

C. MÉTODOS FLUORIMÉTRICOS.

El cortisol y la corticosterona reaccionan en medio ácido y alcalino para formar productos desconocidos cuya concentración puede medirse fluorimétricamente (Braunsberg y James, 1961), y pueden ser aislados cromatográficamente (Kalant, 1958).

El uso de fotomultiplicadores permite trabajar con cantidades mínimas de esteroides, cuya concentración es proporcional a la intensidad de la fluorescencia. Ello hace posible que las cantidades de plasma sean menores, del orden de 1 a 5 ml, pudiendo repetirse las muestras o las pruebas con mucha mayor facilidad que con las técnicas colorimétricas.

Por la misma razón es más fácil la contaminación con impurezas que pueden interferir la metodología, por lo que se exige una cuidadosa preparación, limpieza y purificación de las muestras.

Desde el principio se pudo observar (Silber y col. 1958) que existía una fluorescencia residual inespecífica, independiente de la emitida por los corticosteroides, y que se ha intentado eliminar o corregir de diferentes formas.

La fluorescencia en medio alcalino es específica del grupo Δ^4 -3 cetona, pero para que sea muy sensible exige un hidroxilo en el C-11 ó un anillo fenólico A (Sweat, 1954; Braunsberg y James, 1961).

La fluorescencia en medio ácido la dan muchos esteroides, pero sólo la corticosterona y el cortisol con suficiente intensidad como para ser detectada en las condiciones habituales. La corticosterona da de 2 a 4 veces más intensidad de fluorescencia que el cortisol (Stewart y col. 1961; Mattingly, 1962), pero como en el hombre la corticosterona no suele pasar de 1 $\mu\text{g}/100$ ml prácticamente solo se mide el cortisol. De todas formas

a causa de ser ambos los principales corticosteroides que dan la fluorescencia por estos métodos, se suele hablar de 11-oxicorticoides u 11-hidroxicorticoides que en el hombre es prácticamente sinónimo de cortisol, y en la rata equivale a corticosterona; pero el nombre no es del todo correcto, puesto que muchos esteroides con un grupo OH en el C-11 no dan apenas fluorescencia, como ocurre con los esteroides sintéticos prednisolona, dexametasona, triamcinolona y con otros naturales como la aldosterona.

La cortisona, el tetrahydrocortisol y el 11-desoxicortisol apenas dan fluorescencia. Tampoco dan fluorescencia los esteroides sintéticos (predni-sona, prednisolona, triamcinolona, dexametasona, etc) ni el estriol, ni la estrona (Sweat, 1954; De Moor y col. 1960; Stewart y col. 1961; Mattingly, 1962). La 17-hidroxiporgesterona contribuye muy poco a la fluorescencia del plasma; el estradiol da proporcionalmente la cuarta parte de fluorescencia del cortisol, pero su concentración en plasma es mínima, incluso durante el embarazo (Mattingly, 1962). Normalmente tampoco el pregnane-triol ni la peganetriolona contribuyen a la fluorescencia del plasma, - aunque pueden hacerlo en los defectos enzimáticos congénitos (Rudd y Back, 1968).

También dan fluorescencia los derivados 20 β y 20 α -ol del cortisol - y corticosterona (De Moor y col. 1960; Stewart y col. 1961) pero su concentración plasmática es ínfima.

El colesterol da una fluorescencia muy pequeña, de sólo el 1% de la corticosterona (Stewart y col. 1961) y no hay correspondencia entre la - fluorescencia residual del plasma y la concentración del colesterol en - plasma (De Moor y col. 1960) ni tampoco se elevó el cortisol en un caso - de hiperlipemia con hipercolesterolemia, ni varió al normalizarse el coles-terol (De Moor y col. 1960). Pero últimamente (Stenlake y col. 1970) se le da más imporancia como responsable fundamental de la fluorescencia residual del plasma,

La aldosterona también da fluorescencia en medios ácidos pero a ban-das completamente diferentes de la hidrocortisona (Kalant, 1958). Además su concentración en plasma es del orden de milésimas de μg ($0,008 \pm 0,004$ $\mu\text{g}/100$ ml), (Forsham, 1968). Comparada con el cortisol su fluorescencia es cero (Van der Vies, 1961),

Interfieren con los métodos fluorimétricos muy pocas sustancias. Las espirolactonas (Wood y col. 1965), triparanol (Mattingly, 1962) y la heparina que lleva alcohol bencílico (Werk y col. 1967) especialmente si el diclorometano es impuro (Kendall y col. 1968).

El primero que utilizó la fluorescencia para la determinación de los corticoides plasmáticos fué Sweat (1954) quien para la purificación de los extractos y eliminación de la grasa, el colesterol y los estrógenos, empleaba un paso por cromatografía en silica gel.

Posteriormente otros autores utilizaron también procedimientos cromatográficos para la purificación, pero de más fácil realización que el método de Sweat. Así Lewis (1957) empleaba la cromatografía en papel, obteniendo en 30 normales $9,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de cortisol y $1,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de corticosterona. Parecidos resultados obtienen Bondy y Upton (1957), también en cromatografía en papel y corrección isotópica, Ely y col. (1958) con una modificación del método de Sweat, y Braunsberg y James (1960) con otro método cromatográfico más sencillo.

Silber, Busch y Oslapas (1958) omiten la cromatografía previa en silica gel y utilizan extractos de plasma casi crudos, midiendo de esa forma simultaneamente el cortisol y la corticosterona. De Moor y col. (1960) cambian el reactivo de fluorescencia a base de sulfúrico/agua de Silber y col., por sulfúrico/etanol más útil para la medición del cortisol del plasma humano que da valores de $21,9 \pm 4,7 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, en 143 normales, valores más altos que los conseguidos hasta entonces por los métodos fluorimétricos que utilizaban procedimientos cromatográficos para la purificación previa.

El método de Stewart y col. (1961) es también sencillo, pero separa la corticosterona del cortisol a base de lecturas a tiempos diferentes. Sus resultados son similares a los obtenidos por procedimientos cromatográficos.

El método de Van der Vies (1961) también separa el cortisol de la corticosterona.

En 1962 Mattingly publica su método basado en el De Moor y col. (1960) pero extraordinariamente más simple y más corto, de forma que posteriormen

te ha sido utilizado en multitud de publicaciones. Mide los 11-oxicorticoides plasmáticos o sea el cortisol y la corticosterona. Sus valores normales son 14,2 $\mu\text{g}/100$ ml de plasma con una variación de 6,5 a 26,3 μg .

En el mismo año Braunsberg y James, y en 1963 De Moor y Steeno, publican también métodos simplificados similares al de Mattingly. El de Vermeulen y Van der Straeten (1964), es una modificación del de Van der Vies. - Todos ellos obtienen resultados semejantes. El método de Uete y col. (1970) salvo que utiliza 1 ml de plasma, es más alargado y complicado que estos anteriores. El método de Martin y Martin (1968) es largo y con múltiples pasos, pero separa el cortisol de la corticosterona y puede eliminar la fluorescencia residual del plasma por medio de la hidroxilamina.

De todos estos métodos se puede deducir que mientras lo que emplean las técnicas cromatográficas para la purificación de las muestras, son altamente específicos, aquellos otros que utilizan extractos crudos de plasma pierden especificidad. En general, los primeros dan valores 1/3 más bajo que los segundos.

Pero tanto unos como otros son muy sensibles para las pequeñas concentraciones de los corticosteroides plasmáticos y unas diez veces más sensibles que la reacción con fenilhidrazina (Sweat, 1954).

A los métodos más simples se les objeta la falta de especificidad, - puesto que poseen una fluorescencia residual variable de unos a otros métodos pero que oscila entre el 20 y 55% de la fluorescencia del cortisol, lo que en ocasiones equivale a 7 u 8 $\mu\text{g}/100$ ml (James y col. 1967).

Algunos autores (De Moor y col. 1960; Braunsberg y James, 1962; De Moor y Steeno, 1963) pretenden rebajar al mínimo esa fluorescencia residual o inespecífica leyendo a los 5 minutos, pero bajo esas condiciones la fluorescencia que se mide se debe casi completamente a las sustancias plasmáticas que interfieren, pues las soluciones patrón (standard) de cortisol o corticosterona apenas fluorescen a estos tiempos (Stewart y col. 1961). Otros investigadores pretenden reducir la fluorescencia residual leyendo a varios tiempos (Stewart y col. 1961; Spencer-Peet y col. 1965) basándose en que los plasmas aumentan su fluorescencia en función del tiempo mientras que los patrones (standard) se estabilizan. También se ha empleado

el paso por diferentes particiones de solventes: tetracloruro de carbono y agua (Van der Vies, 1961; Vermeulen y Van der Straeten, 1964), benceno y agua (Braunsberg y James, 1962). Leyendo entre 10 minutos (Vermeulen y Van der Straeten, 1964) y 13 minutos (Mattingly, 1962) la fluorescencia inespecífica se mantiene en límites aceptables.

El método de Martin y Martin (1968) elimina la fluorescencia inespecífica a base de hacer un blanco con cada plasma mediante la adición de hidroxilamina que destruye el cortisol y la corticosterona del plasma sin interferir con la fluorescencia residual.

Sea de una u otra forma, siempre habrá que utilizar unos reactivos purificados, y una metódica y limpieza del material muy escrupulosas.

Con todo se sigue creyendo que por estos métodos tan simples, por ej. el de Mattingly (1962), se miden de un 20 a un 55% de fluorógenos diferentes al cortisol y corticosterona (James y col. 1967), equivalente a $8\mu\text{g}/100\text{ ml}$ de plasma, cuando se compara con un método isotópico. Lo mismo sucede con ligeras diferencias con los métodos de Braunsberg y James (1962) y el de Spencer-Peet y col. (1965).

El colesterol parecer ser que contribuye en gran parte a esa fluorescencia residual (Stenlake y col. 1970) aunque otros investigadores lo hubieran descartado antes (Stewart y col. 1961; De Moor y col. 1960).

Martin y Martin (1968) han introducido en la metódica la adición de hidroxilamina, lo que permite conocer la fluorescencia inespecífica o residual de cada plasma. De esa forma los valores en 33 normales son de $9,6 \pm 3,0\ \mu\text{g}/100\text{ ml}$. semejantes a los obtenidos por los métodos que utilizaban los procedimientos cromatográficos.

D. MÉTODOS ISOTÓPICOS.

La introducción de los isótopos radiactivos en la bioquímica y en los métodos analíticos ha permitido también estudiar los corticosteroides plasmáticos con gran sensibilidad y especificidad.

En primer lugar ha permitido estudiar a fondo el metabolismo del cortisol; su producción diaria, la vida media, la eliminación de sus metabolitos, etc. (Peterson y Wyngaarden, 1955; Peterson y col. 1955; Migeon y col. 1956, b; Cope y Black, 1958). Aunque la medición de la producción diaria del cortisol es un método aparentemente bien establecido, hay que tener ciertas precauciones en su realización y alguna duda sobre su validez (Lazarus, 1962; Fukushima y col. 1968; Fukushima y col. 1969).

Para la determinación del cortisol plasmático se pueden utilizar tres formas (Braunsberg y James, 1961). Una, añadiendo el esteroide marcado a la muestra problema, para al final del análisis químico cuantitativo medir la radiactividad que queda allí. Suele emplearse para corregir las pérdidas que ocurren a lo largo de las manipulaciones. La forma segunda consiste en que el esteroide reaccione con un compuesto radiactivo para dar un derivado químicamente estable que se extrae y purifica, y cuya radiactividad es una medida de la concentración del esteroide. Por último, se pueden utilizar ambas formas a la vez (técnica doble isotópica) para aumentar la seguridad, precisión y sensibilidad del método.

La primera forma se denomina dilución isotópica. Así Bondy y Upton - (1957) utilizaron cortisol-4-C¹⁴ como trazador para corregir las pérdidas a través de una metodología que empleaba cromatografía en papel y finalmente fluorimetría en medio alcalino. Peterson (1959) evaluó de forma semejante el método colorimétrico de Peterson, Karrer y Guerra (1957), Mattingly - (1962) también hizo recuperaciones con su método empleando 4-C¹⁴-Cortisol con resultados semejantes al cortisol no marcado.

Berliner (1957) empleó la segunda forma, que hace reaccionar los corticoides del plasma problema con un reactivo marcado, en ese caso el anhídrido acético-1-C¹⁴, y luego purificaba el producto con cromatografía en papel. Su proceder no ha sido seguido posteriormente por otros autores, más que parcialmente en los métodos dobles isotópicos.

El método doble isotópico ha sido utilizado por Hillman y Guiroud - (1965) para medir la cortisona y cortisol en recién nacidos. Es muy sensible pero bastante complicado por varios pasos cromatográficos.

También el proceder doble isotópico ha sido empleado por James y col. (1967) comparándole con varios métodos fluorimétricos (de Mattingly, 1962; de Braunsberg y James, 1962, y el de Spencer-Peet y col. 1965), encontrando una notable variación de todos ellos frente al doble isotópico basado en que esos métodos fluorimétricos presentan entre un 20 y 50% de fluorescencia inespecífica.

Fraser y James (1968) dan valores de 9,8 μg de cortisol en plasma - por un método doble isotópico, y Jensen y Blinckert-Toft (1970), 13,5 μg en jóvenes y 14,0 μg en personas ancianas.

En 1963, Murphy y col. idearon un método isotópico basado en la competencia proteica del cortisol que desplaza al cortisol marcado unido a la proteína durante un equilibrio de diálisis que duraba 40 horas. Posteriormente cambió el sistema de diálisis por el de gel filtración en columna de Sephadex con lo que redujo el tiempo de la metodología a 2 horas. Más adelante (Murphy, 1967) utiliza un material adsorbente y cortisol tritiado con lo que consigue un aumento de la sensibilidad de 10 a 100 veces superior, pudiendo utilizar el método también para medir corticosterona, cortisona y 11-desoxicortisol, este último de más interés en las pruebas de metopirona.

También se ha utilizado este sistema para la medición del 11-desoxicortisol en plasma (Strott y col. 1969; Meikle y col. 1969) especialmente indicado durante las pruebas de metopirona. Iturzaeta y col (1970) han visto que el método doble isotópico es más específico que los que se basan en la competición proteica pues en estos últimos compiten con el cortisol otros esteroides como la progesterona, 17-hidroxiprogesterona, cortisona y corticosterona, lo cual no tiene importancia práctica en el adulto, pero sí en el niño, especialmente en el recién nacido, en el cordón umbilical, y en los casos de defectos congénitos en la síntesis de los esteroides suprarrenales. Para evitar ese defecto de especificidad del método de competición proteica de Murphy (1967) Iturzaeta y col. realizan una purificación previa del cortisol por un paso cromatográfico, lo que complica la metodología.

Recientemente Midgle y Niswender (1970) han ensayado la vía del radioinmunoensayo para el análisis de los esteroides plasmáticos, que parece prometedora.

Queda por último mencionar que los métodos que miden el cortisol libre del plasma separándolo del cortisol ligado a la CBB e incluso midiendo también por separado la fracción ligada a la albúmina son bastante complicados, necesitando cortisol marcado juntamente con procedimientos de diálisis y de ultrafiltración centrífuga (Rosenthal y col. 1969; Doe y col. 1969; Burke, 1969; O'Connel y Welsh, 1969).

E. CONCLUSIONES.

Los métodos isotópicos son los más sensibles y los que necesitan menor cantidad de plasma (1 ml). Pero para ser altamente específicos requieren purificaciones cromatográficas previas, tanto los que utilizan la competición proteica (Iturzaeta y col. 1970) como los dobles isotópicos, (Hillman y Giroud 1967). Los que utilizan el cortisol marcado como trazador, son tan complicados (Bondy y Upton, 1970) o tan sencillos como los métodos colorimétricos o fluorimétricos a los que se apliquen, con una ventaja la de corregir las posibles pérdidas y una desventaja, la complicación y mayor carestía de la técnica. La ventaja de la corrección de las pérdidas prácticamente no lo es, puesto que las recuperaciones por esas metodólicas se acercan mucho al 100% y lo que les falta es cierta especificidad que no se la dan los trazadores.

Los métodos fluorimétricos son altamente sensibles, pero dejan duda en cuanto a su especificidad sobre todo los que son más sencillos; a pesar de ello y con unas u otras correcciones ya mencionadas, quizá la mejor es la empleada por Martin y Martin (1968) con el clorhidrato de hidroxilamina, son los que más auge tiene en la actualidad en la práctica clínica. Otras dos de sus ventajas son, la primera, la escasa cantidad de plasma requerido (1 ó 2 ml) lo que les hace especialmente útiles para las pruebas dinámicas con repetición de las extracciones, y la segunda, la escasísima interferencia con medicaciones de la más diversa índole (sólo

interfieren las espirolactonas y el triparanol).

Miden los 11-hidroxycorticoides plasmáticos, esto es, la corticosterona y el cortisol, pero como en el hombre predomina con mucho el cortisol prácticamente las mediciones fluorimétricas solo miden cortisol.

Los métodos colorimétricos son menos sensibles pero más específicos aunque tienen cierta desventajas sobre los métodos fluorimétricos. Una es que suelen necesitar más cantidad de plasma (5-10 cc) y otra es que interfieren gran cantidad de sustancias ya mencionadas anteriormente. Miden los 17-hidroxycorticoides del plasma, esto es el cortisol, desoxicortisol y cortisona y sus derivados dihidro y tetrahidro; pero aproximadamente el 90% de todos ellos está constituido por cortisol.

Actualmente siguen empleándose, especialmente las modificaciones de Silber y Porter (1954) y la de Peterson, Karrer y Guerra, (1957).

En la tabla III-1 están recogidos los resultados que se obtienen por los diversos métodos en los individuos normales adultos, entre 8 y 9 de la mañana, pudiéndose observar que en general oscilan entre 6 y 25 μg con una media entre 11 y 15 μg , si se exceptúan los que utilizan métodos cromatográficos o complicados por metódicas laboriosas que dan resultados más bajos, y sin tener en cuenta los métodos de De Moor y col. (1960), y de Silber, Busch y Oslapas (1958) que dan valores excepcionalmente elevados (21,9 y 23,5 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, respectivamente).

TABLA III - I

CONCENTRACION DEL CORTISOL EN PLASMA, A PRIMERA HORA DE LA MAÑANA
EN SUJETOS NORMALES ADULTOS

<u>A u t o r</u>	<u>Nº de</u> <u>Sujetos</u>	<u>Plasma</u> <u>ml</u>	<u>Cortisol en plasma µg/100 ml</u>		
			<u>Media</u>	<u>D. S.</u>	<u>r a n g o</u>
<u>A/METODOS COLORIMETRICOS</u>					
<u>COMPLICADOS</u>					
Nelson y Samuels, 1952	-	10	-	-	4 a 10
Bliss y col. 1953	120	10	13,0	6	2 a 34
Bondy y Altrock, 1953	30	15-20	7,8	3,3	3 a 13,7
<u>B/METODOS FLUORIMETRICOS</u>					
<u>COMPLICADOS</u>					
Lewis, 1957	30	5	9,2	1,5	6 a 12
Ely y col. 1958	20	5	10,9	0,55	5,0 a 16,4
Braunsberg y James, 1960	13	10	7,8	2,4	4,8 a 13,3
Martin y Martin, 1968	33	2	9,6	3,0	-
<u>C/METODOS COLORIMETRICOS</u>					
<u>SENCILLOS</u>					
Silber y Porter, 1954	16	10	13,3	6,2	6 a 25
Peterson, Karrer y Guerra, 1957	50	5	15,0	4,5	6 a 25
<u>D/METODOS FLUORIMETRICOS</u>					
<u>SENCILLOS</u>					
Silber, Busch y Oslapas, 1958	16	0,5	23,5	-	-
De Moor y col. 1960	143	2	21,9	4,7	13 a 32
Stewart y col. 1961	27	1	9,6	2,7	5 a 15
Van der Vies, 1961	5	2,5	13,8	-	8 a 19
Mattingly, 1962	52	2	14,2	-	6,5 a 26,3
Braunsberg y James, 1962	12	4	11,2	4,5	5,9 a 21,8
De Moor y Steeno, 1963	30	1,5	14,8	3,9	-
Vermeulen y Van der Straeten 1964	50	2	14,6	3,7	-
Uete y col. 1970	26	1	15,8	6,3	4,3 a 24,8

CONCENTRACION DEL CORTISOL EN PLASMA, A PRIMERA HORA DE LA MAÑANA

EN SUJETOS NORMALES ADULTOS

<u>A u t o r</u>	<u>Nº de Sujetos</u>	<u>Plasma ml</u>	<u>Cortisol en plasma µg/100 ml</u>		
			<u>Media</u>	<u>D.S.</u>	<u>r a n g o</u>

E/ METODOS ISOTOPICOS

a) con cortisol marcado

Bondy y Upton, 1957	29	20	10,2	3,6	4,0 a 17,7
Peterson, 1959	20	5	11,5	2,5	5,0 a 20,0

b) Con reactivos isotópicos

Berliner, 1957: dá valores a las 3 de la tarde

c) competición proteica.

Murphy y col. 1963	24	1	16,9	-	8,4 a 24,2
Burke, 1969	67	1	11,3	3,3	4,0 a 20,4
Iturzaeta y col. 1970	20	1	11,7	3,7	5 a 20

d) Doble isotópico

Hillman y Giroud, 1965: estudia recién nacidos

Iturzaeta y col. 1970	5	1	13,3	-	10,2 a 15,4
Fraser y James, 1968	17	-	9,8	-	3,1 a 20,2
Jenser y Blichert-Toft, 1970	11	-	13,5	2,6	10,0 a 18,6

IV

METODO UTILIZADO EN ESTE TRABAJO

METODO UTILIZADO EN ESTE TRABAJO

El método elegido ha sido el fluorimétrico de Mattingly (1962), para el que sólo se necesita 2 cc. de plasma, y es de gran sencillez, seguridad y rapidez.

Al principio se realizó según el proceder descrito por Mattingly, - pero más adelante con objeto de estudiar simultaneamente la fluorescencia inespecífica de los plasmas se introdujo el paso de la adicción de hidroxilanina según el trabajo de Martin y Martin (1968), con lo que la técnica original de Mattingly se alarga un tanto aunque no resulta tan larga ni complicada como la descrita por Martin y Martin, ya que solo se ha medido cortisol en plasma dejando a un lado su separación de la corticosterona.

REACTIVOS Y SOLUCIONES.

1.- Solución standard de Hidrocortisona, conteniendo 1 μg /1 ml. en solución acuosa. Primero se prepara una solución madre de 50 mg. de Hidrocortisona en polvo "Alter", en 50 ml de alcohol etílico absoluto. De ella se toma 1 ml. y se lleva hasta 100 ml con agua destilada, con lo que queda una solución acuosa de 10 μg de cortisol por 1 ml. Estas dos soluciones permanecen estables durante meses a $\pm 4^\circ \text{C.}$, siendo aconsejable su renovación anual. La solución standard de trabajo es la que contiene 1 μg /1 ml. y se prepara cada mes partiendo de la solución acuosa que contiene 10 μg /1 ml. También debe conservarse en nevera.

2.- Diclorometano "MERCK" p.a. Algunos tipos de Diclorometano es necesario purificarlo añadiendo ácido sulfúrico concentrado y decantando a diario hasta que deje de arrastras color. Luego se lava con sosa y se seca con sulfato sódico anhidro. Después se debe destilar a reflujo entre

47 y 48^o desechando la primera y última fracción. Igual que De Moor y col. (1960), en el curso de este trabajo no se han observado diferencias entre la utilización del Diclorometano "Merck" p.a., purificado y sin purificar, por lo que en la práctica su purificación se ha abandonado. Se debe guardar en frascos oscuros y al abrigo de la luz.

3.- Alcohol absoluto "Merck" p.a. Utilizando esta marca no es necesario su purificación con potasa y nitrato de plata según técnica de Peterson, Karrer y Guerra, (1957).

4.- Acido sulfúrico concentrado "Merck" p.a. (95 a 97%).

5.- Acetato de sodio anhidro "May & Baker".

6.- Solución de Alcohol-Acetato a saturación. El acetato de sodio anhidro "M & B" se disuelve a saturación en alcohol etílico absoluto "Merck". Luego se decanta eliminando el exceso de acetato. Se prepara cada semana y se conserva a temperatura ambiente.

7.- Clorhidrato de Hidroxilamina "Merck" p.a.

8.- Solución de Hidroxilamina al 1%. Se prepara añadiendo a 100 mg. de clorhidrato de Hidroxilamina, Alcohol-acetato a saturación hasta 10 c.c. No se llega a la disolución completa de la hidroxilamina; cada vez que se vaya a utilizar es conveniente agitarlo y dejarlo reposar antes de usarlo. Se conserva a temperatura ambiente, y debe renovarse cada semana si no se hubiera gastado.

9.- Reactivo de Fluorescencia. Agregar 7 volúmenes de Ac. Sulfúrico concentrado a 3 vol. de Etanol absoluto, en un matraz enfriando continuamente bajo chorro de agua fría para evitar el calentamiento. La solución se debe preparar cada vez que se necesita poco antes de su empleo, ya que con el tiempo, o de un día para otro hace subir la fluorescencia del blanco.

DESCRIPCION DEL METODO.

a) Extracción.: Se toman muestras dobles de 2 cc. cada una, de agua destilada (Blanco), de la solución standard de trabajo de Hidrocortisona (1 µg/1 ml) y de cada plasma problema, que se colocan en tubos de fondo cónico y tapón esmerilado, de unos 50 cc. de capacidad. En cada tubo se añaden 15 cc. de Diclorometano, que tambien se pueden poner antes de añadir los 2 cc. de cada muestra de blanco, standard o plasma. Se tapa bien, con enganches metálicos si los tapones van preparado para ello, o sujetándolos con tiras de esparadrapo. Se agitan por rotación sobre una plataforma inclinada a 33 revoluciones por minuto durante 20 minutos.

b) Evaporación.: Después de la agitación se dejan reposar unos minutos los extractos, y mediante pipetas que se introducen hasta el fondo, se extraen por succión con una propipeta de goma, 10 cc. de cada extracto que se colocan en tubos largos y anchos (2,5 cm. de diámetro por 12 - cm. de alto) y se dejan evaporar a temperatura ambiente o sobre placas de calefacción a temperatura no superior a 40° C., o se evaporan con aparatos (rotavapor) si se desea verificar este paso con más rapidez, ya que en los primeros casos tarde unas 12 - 24 horas en evaporarse por completo.

c) Destrucción de los dobles con hidroxilamina. Los tubos con el residuo seco se disponen en doble fila; a unos se les añade 0,3 cc. de solución de Alcohol-Acetato, y a cada doble 0,3 cc. de solución de Hidroxilamina al 1%, agitando suavemente 10-20 segundos para disolver el residuo seco. Se dejan estar 1 hora a temperatura ambiente. Luego añadir a todos los tubos 10 cc. de Diclorometano y agitar unos segundos suavemente.

d) Fluorescencia. En otros tantos embudos de separación de unos 60cc. se ponen 5 cc. de Reactivo de Fluorescencia recién preparado. Minuto a minuto y a partir de un tiempo cero añadir a cada par de embudos los 10 cc. del extracto en diclorometano de cada muestra par (una con alcohol-acetato y otra con hidroxilamina) y agitar fuertemente 20 segundos. Recoger - cada muestra en un tubo de ensayo en espera de realizar la lectura.



e) Lectura.: Se debe realizar exactamente a los 13 minutos de la mezcla del reactivo de fluorescencia con cada par de extractos en diclorometano. Si las mezclas se han efectuado cada minuto, las lecturas se pueden efectuar minuto a minuto. El aparato utilizado ha sido un Espectrofotofluorómetro Aminco-Bowman que previamente a la lectura se habrá encendido y colocado en las siguientes condiciones: Excitación a 470 mμ y Emisión 530 mμ. Habitualmente el fotomultiplicador estaba en 0,01 y la sensibilidad entre 15 y 50.

f) Cálculo.: El blanco procedente del alcohol-acetato y el de la hidroxilamina deben leer igual, generalmente entre 5 y 8. A cada muestra de standard y plasma problema se le resta su respectivo blanco, que es el doble al que se añadió hidroxilamina, en el cual quedó destruido el cortisol. Por ello el standard con hidroxilamina dará una lectura igual a los blancos de agua destilada, mientras que los plasmas con hidroxilamina leerán algo más según su fluorescencia inespecífica (ver gráfica VI-A-10).

Después de restar a cada muestra su blanco (tubo con hidroxilamina) se calcula su valor en función de la lectura del standard, el cual equivale a 100 μg de cortisol por 100 ml de plasma.

Ejemplo:

	<u>Lectura</u>	<u>-B</u>	<u>Cortisol</u> <u>μg/100ml</u>	<u>Fluorescencia</u> <u>inespecífica</u> <u>μg/100ml</u>
B	7,0			
B + H	7,0	0	0	-
St	92,0			
St + H	7,0	85	100 μg	-
P	26,0			
P + H	8,5	17,5	20,5 μg	$\frac{1,5}{85} \times 100 = 1,7$
P'	17,5			
P' + H	9,0	8,5	10,0 μg	$\frac{2,0}{85} \times 100 = 2,3$

ESPECTROS DE EXCITACION Y EMISION.

La elección de las longitudes de onda para la lectura de los problemas corresponde a los picos de máxima intensidad de fluorescencia del cortisol como se puede observar en la figura IV-1, que corresponde a un registro gráfico de una muestra de solución standard preparada según las condiciones habituales.

PROPORCIONALIDAD DE LAS LECTURAS.

Si se determina el contenido de hidrocortisona en varias muestras de solución standard a diferentes concentraciones, se observa una proporcionalidad directa de las lecturas una vez restado el blanco. Véase la gráfica IV-2, y la IV-3.

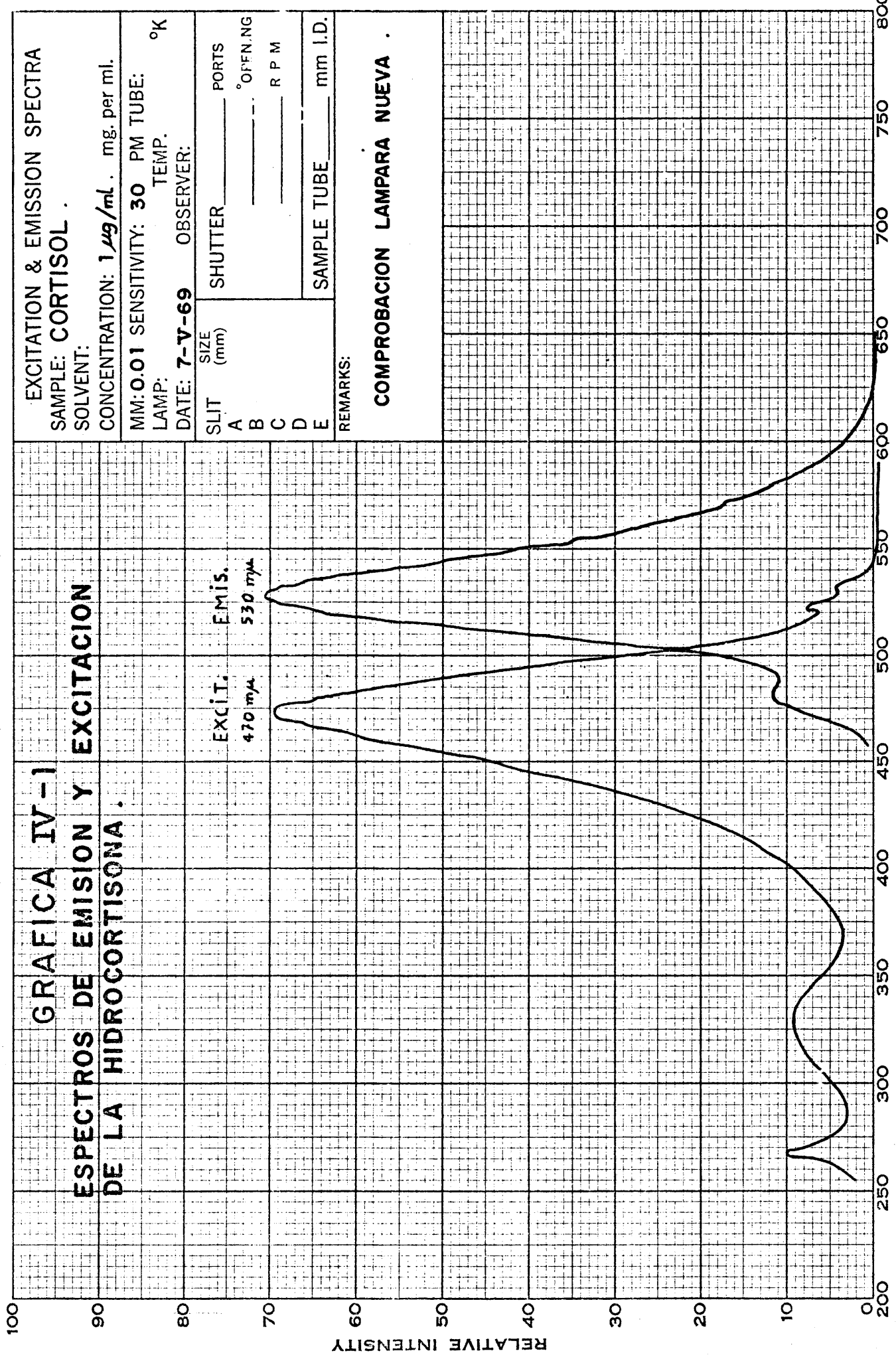
ACCION DE LA HIDROXILAMINA.

La hidroxilamina actúa sobre el cortisol (y corticosterona) formando una oxima con lo que el cortisol altera su fluorescencia en alcohol - sulfúrico. Igualmente el cortisol de una muestra de plasma a la que se añada hidroxilamina verá desaparecer gran parte de su fluorescencia, sin alterarse aparentemente la fluorescencia inespecífica del plasma (Martin y Martin, 1968).

Por ello si a una cantidad determinada de cortisol se le añade hidroxilamina la fluorescencia quedará reducida a la misma que el blanco, esto es a cero.

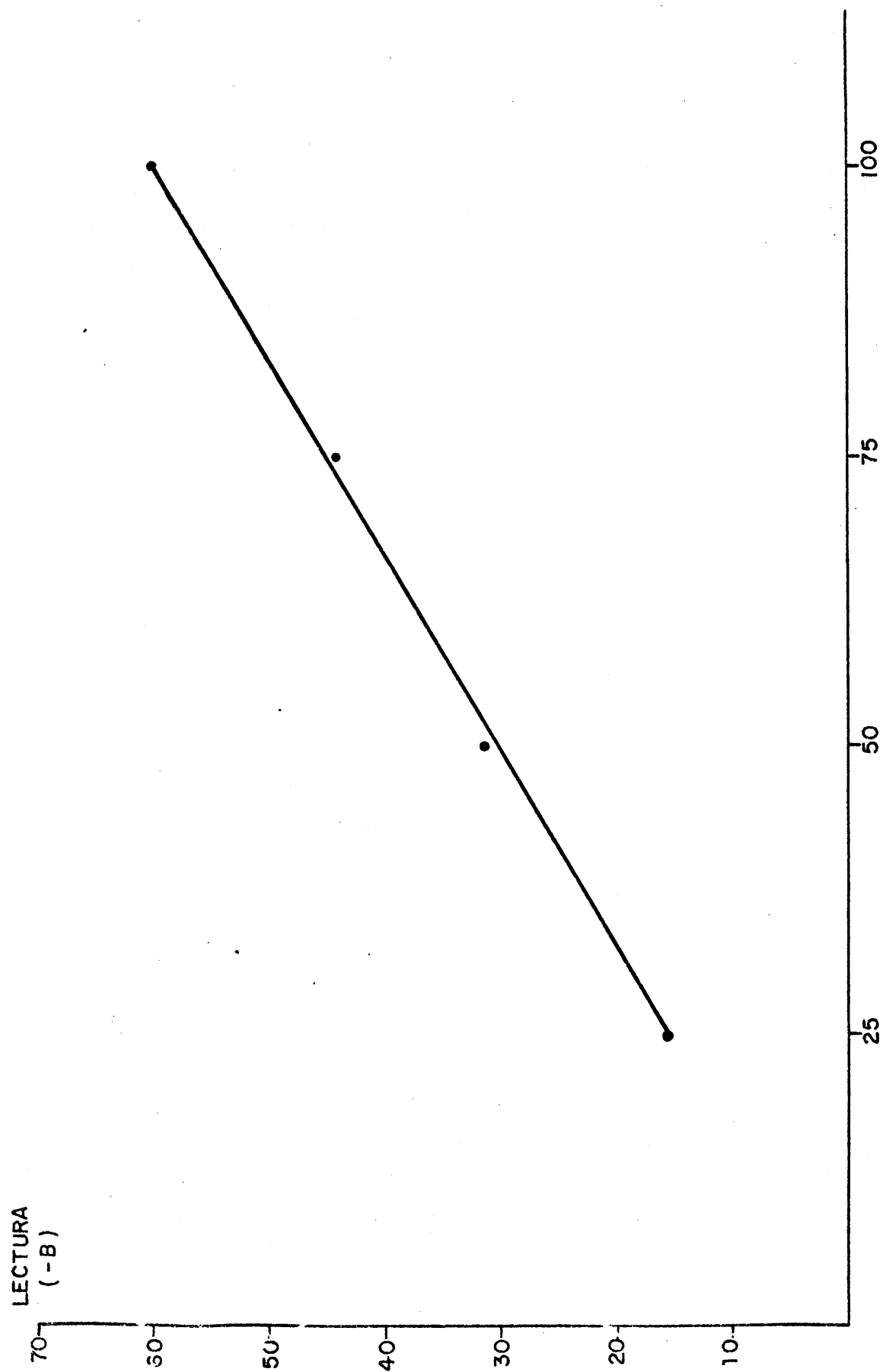
Así, por ejemplo, en la gráfica IV-3, que recoge el espectro de emisión de varias muestras, se observa como 100 y 200 μg de cortisol son destruidos por la hidroxilamina (0,3 ml al 1%) reduciéndose su fluorescencia a la misma que el blanco.

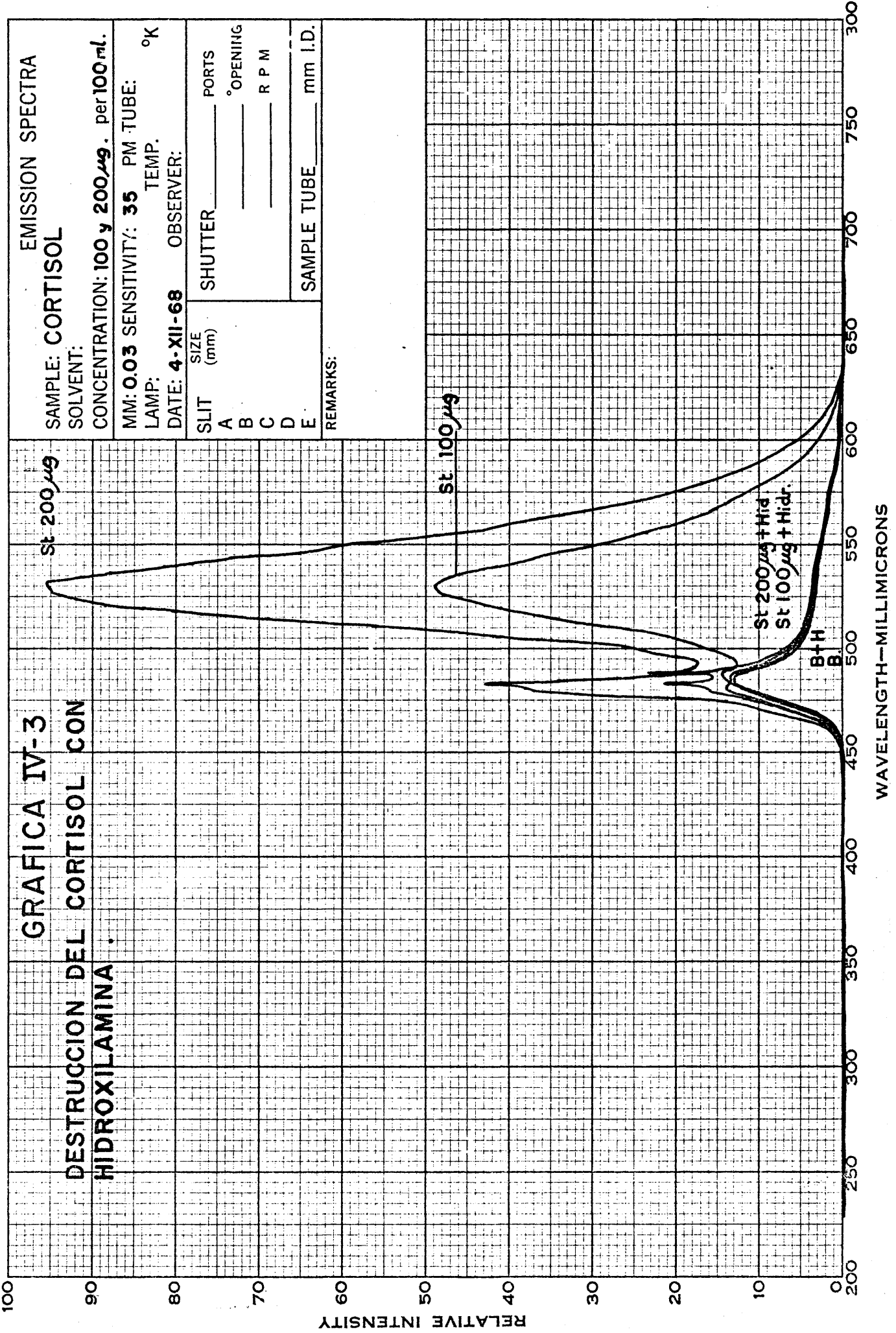
Ahora bien, para que la acción de la hidroxilamina se manifieste es necesario que se añada al residuo seco de la evaporación del extracto en diclorometano, y no en cualquiera de los otros pasos de la metodología.



GRAFICA IV-2

PROPORCIONALIDAD DE LAS LECTURAS DEL CORTISOL A DIFERENTES CONCENTRACIONES (15-III-67)





RECUPERACION.

En algunos casos, utilizando un mismo plasma se realizaron pruebas de recuperación con unos resultados excelentes como se puede observar en la - tabla IV-1, que además de los valores individuales en 10 ocasiones señala una media de 103,4%.

ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE EL METODO.

1. Separación inmediata o no del plasma.

Habitualmente las muestras de sangre permanecían en nevera a $+4$ ó $+6^{\circ}$ C. durante unas 4 - 6 horas hasta su centrifugación para separar el plasma. Si la extracción se realizaba la noche anterior, o a última hora de la tarde (final goteo ACTH, o Lisina Vasopresina tarde) generalmente permanecía en nevera 15 a 22 horas antes de separar el plasma.

Con objeto de conocer si ese intervalo podía influir en la determinación del cortisol en plasma se ha realizado la centrifugación de la sangre a diferentes horas utilizando el mismo plasma, sin observar diferencias apreciables como se puede ver en la tabla IV-2. Ni el cortisol en plasma, ni su fluorescencia inespecífica sufren modificación en las primeras 30 horas, efectuadas las pruebas por duplicado.

En un caso (nº 1094) estuvieron dos muestras en nevera 4 y 5 días, - por olvido, antes de su centrifugación, obteniendo en los resultados unas fluorescencia inespecífica de 10,0 y 16,2 $\mu\text{g}/100$ ml respectivamente, o sea francamente elevada.

2. Conservación de los plasmas en nevera (-4° a 0° C.)

Los plasmas y la solución standard se conservan perfectamente en nevera de -4° a 0°C . o mejor a temperaturas menores (-15° C.) completamente congelados sin variaciones significativas durante un mes por lo menos, como se puede ver en la tabla IV-3 obtenida con el mismo plasma de un donante de sangre.

RECUPERACION DEL CORTISOL AÑADIDO A VARIAS MUESTRAS DE PLASMA

<u>Cortisol añadido al plasma</u>	<u>Plasma</u>	<u>µg hallados</u>	<u>% de recuperación</u>
0,25 µg/0,25 ml = 12,5 µg/100 ml...	13,9	28,4	117,3%
0,50 µg/0,50 ml = 25 µg/100 ml	22,0	47,5	102,0%
	13,8	41,6	111,2%
	13,9 .	36,7	91,3%
1,0 µg/1,0 ml = 50 µg/100 ml	24,0	76,5	105,0%
	27,2	77,6	100,5%
	13,8	66,6	105,6%
	20,5	72,7	104,4%
	16,2	60,1	87,8%
	13,9	68,3	108,8%
Media (10 casos).....			103,4%

INFLUENCIA DEL MOMENTO DE LA SEPARACION DEL PLASMA
SOBRE LA DETERMINACION DEL CORTISOL

	<u>Inmediata</u>	<u>8 horas</u>	<u>30 horas</u>	<u>48 horas</u>
<u>(13-IX-67)</u>				
Cortisol (µg/100 ml)				
(incluida la fluorescencia inespecífica)	27,2	28,9	27,2	31,8

<u>(15-IV-69)</u>				
Cortisol (µg/100 ml)	15,0	15,0	16,0	-
Fluorescencia inespecífica.	3,3	2,2	3,1	-

-:-:-:-:-

TABLA IV-3

CONSERVACION DE LOS PLASMAS EN NEVERA

<u>Nº de días</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>7</u>	<u>30</u>	<u>60</u>	<u>90</u>
Cortisol µg/100 ml..	15,0	15,8	15,8	13,3	12,7	20,0	26,0
Fluor. inespecífica µg/100 ml.	3,3	2,5	1,4	1,4	2,0	-	4,6

-:-:-:-:-

TABLA IV-4

TIEMPO DE LECTURA EN 14 PLASMAS

MEDIAS

<u>Minutos</u>	<u>13</u>	<u>30</u>	<u>60</u>	<u>90</u>	<u>120</u>	<u>150</u>	<u>18</u>
Cortisol µg/100 ml.	21,3	22,6	23,0	23,3	24,1	24,0	24,7
Fluor. inespecífica µg/100ml.	2,5	3,3	3,5	4,9	5,0	5,9	6,6

-:-:-:-:-

3. Agitación mecánica y manual.

El modo de efectuar la extracción del cortisol del plasma con diclorato es muy importante, interviniendo extraordinariamente la forma de agitación, el volteo rápido o lento, número de volteos y tiempo.

Concretamente se han comparado la agitación en un aparato con una - plataforma inclinada que gira a 33 revoluciones por minutos, durante 20min con la agitación manual fuerte y rápida durante 10 minutos.

Si la prueba se efectúa con una muestra de solución standard de hidrocortisona a diferentes concentraciones, no hay variación entre los resultados obtenidos con ambos métodos.

Pero si se trata de plasma, entonces las lecturas son mayores con la agitación manual, correspondiendo ese aumento a la fluorescencia inespecífica del plasma, como se comprueba realizando la debida corrección con la hidroxilamina.

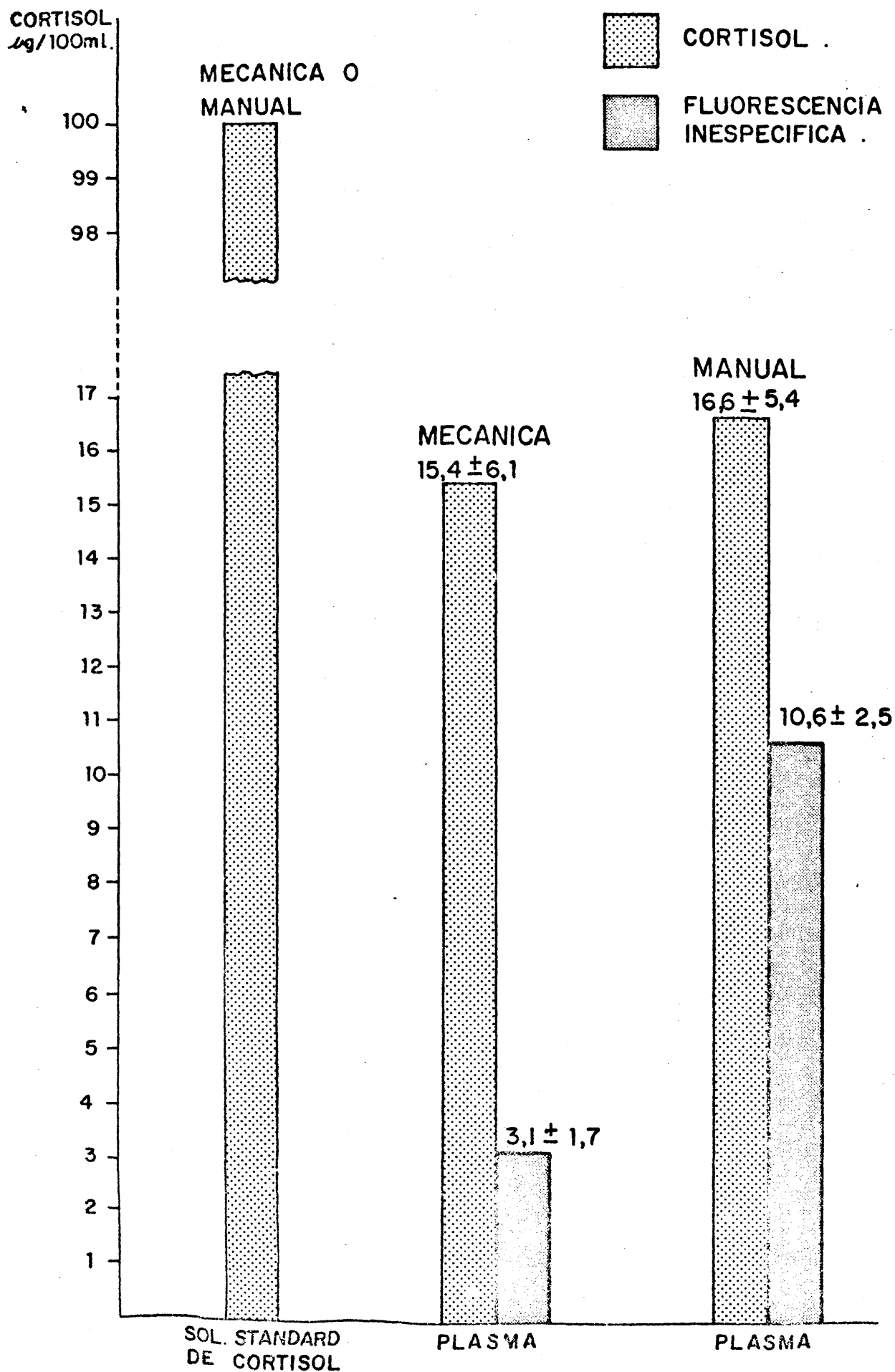
En una experiencia con 20 muestras de plasma de otros tantos donantes del Servicio de Transfusiones, se ha efectuado la determinación del cortisol en plasma empleando con muestras alicuotas de los mismos plasmas ambos sistemas de agitación. La media del cortisol en plasma con la agitación mecánica ha sido de $15,4 (\pm 6,1) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, y con la agitación manual, de $16,6 (\pm 5,4) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, o sea prácticamente igual por ambos medios de extracción ($p < 0,60 \text{ N.S.}$). Por el contrario la fluorescencia inespecífica media ha sido de $3,1 (\pm 1,7) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, por agitación mecánica, y de $10,6 (\pm 2,5) \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. con agitación manual, resultados francamente diferentes ($p < 0,001$) como se puede observar en la gráfica IV-4.

Un tiempo de agitación mayor no influye en los resultados empleando el sistema mecánico ya que una misma solución standard de hidrocortisona ($2 \mu\text{g}/2 \text{ ml} = 100 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) lee lo mismo si se agita solo 20 minutos (lo habitual) o 45, 60, 75 ó hasta 90 minutos. Por tanto no tiene objeto agitar más tiempo.

Por el contrario cuanto más tiempo se agite manualmente (fuerte y rápido) las lecturas son mayores (15 min. > 10 min. > 5 min.) indicando una mayor obtención de fluorescencia inespecífica.

DIFERENCIAS ENTRE LA AGITACION MECANICA (20min. a 33r.p.m)
Y MANUAL (10 min.) .

EXPERIENCIA CON 20 DONANTES



En conclusión se debe emplear la agitación mecánica (33 revoluciones por minuto) durante 20 minutos ya que da resultados más estables y la fluorescencia inespecífica es considerablemente menor que si se realiza la extracción por agitación manual fuerte y rápida.

4. Tiempo de lectura.

En los primeros 30 minutos, las lecturas aumentan muy rápidamente en forma de curva ascendente. Entre los 30 y 60 minutos la subida es más lenta o se estabiliza de forma que a los 90 minutos ya se ha iniciado un suave descenso progresivo que se prolonga pasados los 180 minutos.

El cortisol en plasma se comporta igual que la solución standard de hidrocortisona, aunque con una ligera tendencia a leer proporcionalmente más con el tiempo. Esa subida conforme se retrasa la lectura, se observa de forma más marcada si determinamos la fluorescencia inespecífica.

En la tabla IV-4 se dan las medias de los resultados obtenidos con 14 plasmas leídos a diferentes tiempos, en función de la solución standard de hidrocortisona, constantemente equiparada a 100 μg por 100 ml.

Por ello el cronometrar el tiempo de lectura es muy importante si se lee en los primeros 30 minutos, como sucede con el método de Mattingly, ya que si no se hace así el error puede ser considerable. La lectura a los 60^o ó 90 min. tendría la ventaja de la menor variación de la fluorescencia en el curso de unos minutos de diferencia, siempre que, naturalmente, se descontara la fluorescencia inespecífica a cada plasma.

5. Interferencias con el método fluorimétrico.

En primer lugar hay que resaltar la importancia de la pureza de los reactivos, de la limpieza meticulosa del material, y de la pulcritud durante todo el desarrollo de la metódica, ya que cualquier materia añadida a las muestras hará aumentar su fluorescencia originando unos resultados falsamente elevados en una cuantía desconocida e imprevisible, ya que esa contaminación exógena se comporta frente a la hidroxilamina como si fuera cortisol.

Muy pocos medicamentos o compuestos químicos de uso médico, interfieren con este método fluorimétrico a diferencia de los colorimétricos. Aparte, naturalmente de la hidrocortisona. Solamente el triparanol (Mattingly 1962), las espirolactonas (Wood y col. 1965) y la heparina que lleva alcohol bencílico (Jerk y col. 1967), elevan falsamente los resultados. A este respecto, en dos pacientes que tomaban espirolactonas, se ha comprobado este hecho, constatando una elevación varias veces superior al valor anterior a la toma del fármaco, mientras que no varía apreciablemente la fluorescencia inespecífica en ambas situaciones.

La colemia elevada en los casos de ictericia, parece ser (Mattingly, 1962) que no interfiere con el método. En dos casos estudiados en este sentido no se ha observado aparentemente ninguna anormalidad.

En cuanto a la hemólisis, apreciada en 38 ocasiones no se han observado diferencias aparentes en la fluorescencia inespecífica (tabla VI-A-18) ni en el cortisol respecto de los plasmas sin signos de hemólisis. Es más, en 9 sujetos hubo ocasión de comparar la misma prueba con y sin hemólisis y no se hallaron diferencias entre unos y otros. También, trabajando con un mismo plasma con más o menos hemólisis conseguida artificialmente, no se observó ninguna diferencia entre el plasma transparente y los teñidos con más o menos intensidad.

V

MATERIAL Y METODICA EMPLEADOS

MATERIAL Y METODICA EMPLEADOS

La inmensa mayoría de los sujetos considerados en los apartados sucesivos pertenecían a la Clínica de Nuestra Señora de la Concepción, Fundación Jiménez Díaz, en calidad de pacientes, ya fueran ambulatorios o ingresados en alguno de sus departamentos, con gran frecuencia en el de Endocrinología. Incluso en el grupo de normales, intervinieron en algunas pruebas personal sanitario, médicos y enfermeras de la Fundación.

Otros pacientes procedían de la Ciudad Sanitaria Provincial Francisco Franco, generalmente del Servicio de Endocrinología, y a veces de alguno de los Departamentos de Medicina Interna.

En todos los casos la agrupación de un determinado individuo bajo uno u otro diagnóstico se hacía primero de forma provisional para revisar lo posteriormente cuando el estudio clínico, de laboratorio, e incluso - anatomopatológico estuviera completado.

Los pacientes con diagnóstico dudoso o no se han incluido o se comentan de forma particular llegado el caso.

Las extracciones de sangre para cortisol en plasma se hacía con una jeringa con sus paredes mojadas en heparina, guardándose inmediatamente - en nevera entre 4 y 6 °C. hasta separar el plasma unas horas después o a veces al día siguiente, volviendo a guardar el plasma en nevera entre -4 y 0° C. o mejor congelado hasta el momento de realizar la determinación según el procedimiento especificado en el apartado IV.

Para el cortisol basal se extraía sangre heparinizada entre las 8 y las 9 horas de la mañana, con el paciente en ayunas.

Para el cortisol nocturno, la sangre se extraía a las 23 horas, 11 de la noche, generalmente del día anterior a la extracción basal, para de esa forma tener los datos necesarios para valorar el ritmo circadiano del cortisol plasmático.

En los casos que se realizaba un estímulo con 25 U. de ACTH sintético en inyección intravenosa (i.v.) directa, (Moncloa y col. 1966), esta inyección se ponía a continuación de haber extraído sangre para el cortisol basal. Después se repetían las extracciones de sangre heparinizada, a la media hora, a las dos horas, y a veces también a las 3, 4 y 5 horas, teniendo como hora de referencia el momento de la inyección i.v. de ACTH. Al paciente se le permitía un desayuno ligero entre las extracciones de la 1/2 y de las 2 horas.

Al comenzar este trabajo solamente se utilizaba el tetracosapéptido Synacthen ("Ciba") β 1-24 Corticotrofina que se presenta en ampollas con teniendo 0,25 mg. de polvo seco, fácilmente soluble en el disolvente que le acompaña, o simplemente en 2 c.c. de suero fisiológico. Más tarde, por dificultades de adquisición de dicho producto, también se ha empleado el pentacosapéptido DW-75 ("Sandoz") que viene preparado ya en solución con teniendo cada ampolla 0,04 mg., pero equivalente igual que el anterior a 25 U.I. de ACTH natural.

Ambos preparados son pues de composición análoga aunque no igual, y su acción biológica medida en U.I. de ACTH natural es prácticamente igual (25 U.I.) ampolla a ampolla.

Con menos frecuencia que la inyección i.v. directa de ACTH sintético el estímulo de la corteza suprarrenal se ha efectuado mediante infusión i.v. gota a gota durante 8 horas, de 500 cc. de suero fisiológico o glucosado conteniendo 25 U. de ACTH soluble, y que se realizaba dos días consecutivos. Al final de cada infusión (justo al final) se extraía sangre heparinizada para cortisol en plasma. Esos días se recogía también la orina de 24 h. en nevera, para la dosificación de los 17-hidroxicorticoides y 17 cetosteroides.

Para las pruebas de supresión con Dexametasona, después de recogida la basal antes de comenzar la prueba, se realizaron extracciones a las 9 de la mañana de los días que duraba la prueba y de forma simultánea, se recogía la orina de 24 h. para las determinaciones de 17-hidroxicorticoides y 17-cetosteroides. En realidad esta prueba así consignada se ha rea

lizado en pocos pacientes, recogién dose más experiencia con la supresión rápida nocturna (NUGENT y col. 1965) que consiste en administrar una noche a las 23 horas, 1 mg de Dexametasona, por vía oral, y a la mañana siguiente entre las 8 y las 9 horas, extraer sangre para cortisol en plasma. Como norma práctica, siempre se ha administrado el mismo preparado de Dexametasona (Decadran "Cepa", 2 comprimidos de 0,5 mg.).

Los 17-hidroxycorticoides urinarios se han determinado por la técnica de Smith, Mellinger y Patti (1954), ligeramente modificada.

La prueba de Lisina-8-Vasopresina que se comenzó realizando solamente por la mañana, después se pasó a efectuar también por la tarde. En el primer caso, una vez extraída la sangre para la basal a las 9,00 horas, se inyectaba 1 ampolla de Lisina-8-Vasopresina ("Sandoz") que contiene - 10 U.I., intramuscularmente en el deltoides, según la técnica de Gwinup (1965), y una hora después se repetía la extracción de sangre para cortisol.

Cuando la prueba se efectuaba por la tarde, la sangre para la basal se extraía a las 5 de la tarde inyectándose entonces la inyección de Lisina-8-Vasopresina y repitiendo la extracción de sangre a las 6 de la tarde.

Cuando varias de estas pruebas se realizaban en el mismo paciente se procedía de forma que no hubiera interferencias entre unas y otras, dejando en ocasiones un día o más de intervalo libre.

Suponiendo que a un mismo individuo se le fueran a practicar todas las pruebas mencionadas anteriormente, se podría proceder del siguiente modo:

Día 1 .: Extraer sangre para cortisol nocturno a las 23,00 horas.

Día 2 .: Hora 9,00: a) Cortisol basal.

b) inyectar en vena el ACTH sintético.

Hora 9,30.: Cortisol a la 1/2 hora del ACTH.

Hora 11,00: Cortisol a las 2 horas del ACTH.

Día 3 .: Hora 9,00 .: a) Cortisol basal.

b) inyectar L-Vasopresina en deltoides.

Hora 10,00.: Cortisol a la hora de la iny. de L-Vasopresina.

Día 4 .: Hora 17,00 .: a) Cortisol basal.

b) inyectar L-Vasopresina en deltoides.

Hora 18,00 .: Cortisol a la hora de la iny. de L-Vasopresina.

Día 5 .: Hora 23,00 .: Dexametasona lmg. oral.

Día 6 .: Hora 8,30 .: Extraer sangre para cortisol (NUGENT).

VI

RESULTADOS

RESULTADOS

A) POR TIPOS DE DETERMINACIONES Y PRUEBAS REALIZADAS

RESULTADOS

A/ POR TIPOS DE DETERMINACIONES Y PRUEBAS REALIZADAS

1. Basal
2. Noche
3. Ritmo circadiano: caída nocturna
4. Estímulo con 25 U.I. de ACTH sintético en inyección i.v.
directa. a) a la 1/2 hora.
b) a las 2 horas.
5. Estímulo con 25 U.I. de ACTH en perfusión i.v. de 8 horas.
6. Supresión nocturna con 1 mg. de Dexametasona.
7. Estímulo con 10 U. i.m. de Lisina-8-Vasopresina.
8. Fluorescencia inespecífica del plasma.

1. BASAL.

La determinación del cortisol basal se ha realizado entre las 8,00 y las 9,00 h. de la mañana, con el sujeto en ayunas.

En 83 sujetos normales, la media ha sido de 15,6 μg ($\pm 5,4$), no observándose diferencias entre hombres y mujeres.

TABLA VI-A-1

=====

CORTISOL PLASMATICO BASAL: SEGUN SEXO

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>
Hombres	46	15,7 μg /100 ml.
Mujeres	37	15,4 μg /100 ml.

Agrupados por edades, tampoco se han apreciado diferencias significativas como se puede ver en el apartado VI-B, Tabla VI-B-2, al considerar el grupo de normales.

En el cuadro siguiente (VI-A-2) están considerados en conjunto las determinaciones basales del grupo de sujetos normales, con enfermedad de Addison, hiperfunciones suprarrenales, etc., observándose que existe una diferencia significativa entre NORMALES, ADDISON, e HIPERFUNCIONES, mientras que los restantes grupos no se difieren apreciablemente del grupo de los normales.

Esto quiere decir que una sola determinación basal sirve para decir con grandes probabilidades de éxito, si un sujeto posee una función suprarenal normal, disminuida (primaria o secundaria) o aumentada. Entre los grupos normales y las hipofunciones (primarias o secundarias) hay una diferencia más neta, que entre normales e hiperfunciones, como se puede - observar con más facilidad en la figura VI-A-1, formada con las medias - más menos una desviación standard de los grupos mencionados. También se puede observar como los hipotiroidismos forman un grupo intermedio entre normales e hiperfunciones.

2. NOCHE.

Para conocer la concentración del cortisol nocturno, es decir, el momento en que su cuantía en plasma es mínima, se realizaba la extracción de sangre entre las 22,30 y 23,30 horas, tanto en los sujetos ingresados como en los ambulatorios.

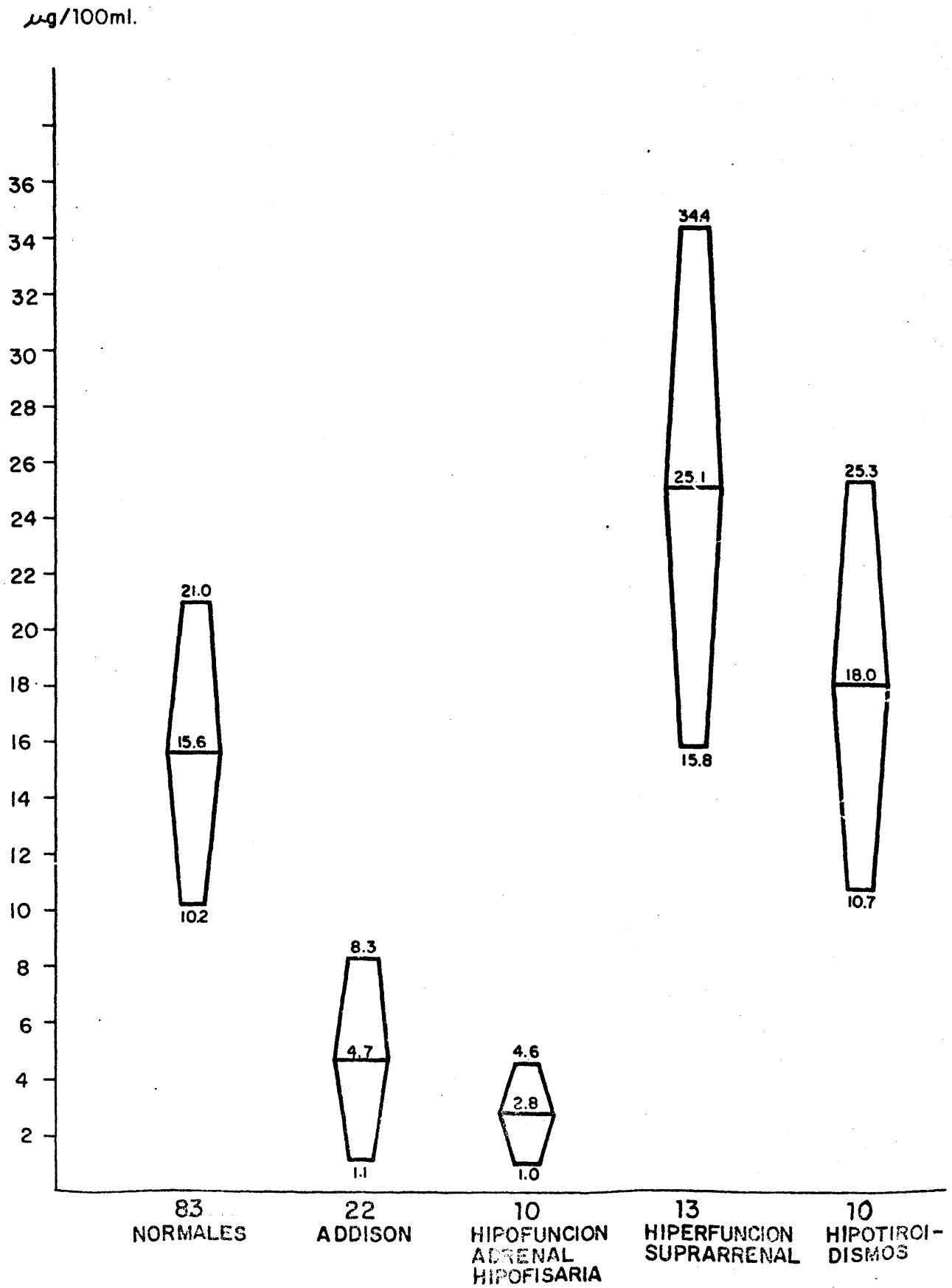
Los resultados recogidos en la tabla VI-A-3, muestran una clara separación del grupo de las hiperfunciones respecto de los restantes, excepto de los hipotiroides, parecido a lo que sucedía con la concentración basal.

Ver también la gráfica VI-A-2, obtenida con las medias más menos - una desviación standard en la que se aprecian visualmente esos resultados.

CORTISOL PLASMATICO BASAL ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$):Hora 8,00 - 9,00

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv. Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	83	15,6	3,8-27,6	5,4	0,59	-	-
ADDISON	22	4,7	0,0-10,0	3,6	0,76	11,84	<0,001
INSUF.SUPR.PARCIAL	8	13,4	6,9-20,1	5,2	1,85	1,15	N.S.
MELANOSIS PSEUDO- ADDISONIANA.	6	14,0	7,9-21,6	5,7	2,32	0,67	N.S.
INSUF.SUPR.HIPOFI- SARIA.	10	2,8	0,0- 5,5	1,8	0,58	15,23	<0.001
HIPERFUNCIONES SUPRARRENALES.	13	25,1	13,8-46,9	9,3	2,58	3,55	<0.001
OBESOS	20	14,7	5,6-26,1	5,8	1,29	0,62	N.S.
HIRSUTISMOS	12	13,9	8,5-23,7	4,7	1,35	1,18	N.S.
ACROMEGALIAS	14	13,5	5,5-27,2	6,6	1,77	1,10	N.S.
HIPOTIROIDISMOS	10	18,0	8,1-30,8	7,3	2,31	1,00	N.S.
HEPATOPATIAS	9	14,9	7,4-29,4	7,2	2,41	0,28	N.S.
GRUPO MISCELANEO	30	13,1	2,8-29,6	5,4	0,98	2,19	N.S.
HIPERFUNCIONES	13	25,1	13,8-46,9	9,3	2,58	-	-
HIPOTIROIDISMOS	10	18,0	8,1-30,8	7,3	2,31	2,08	N.S.

CIFRAS BASALES DE CORTISOL EN PLASMA ($\mu\text{g}/100\text{ml.}$)

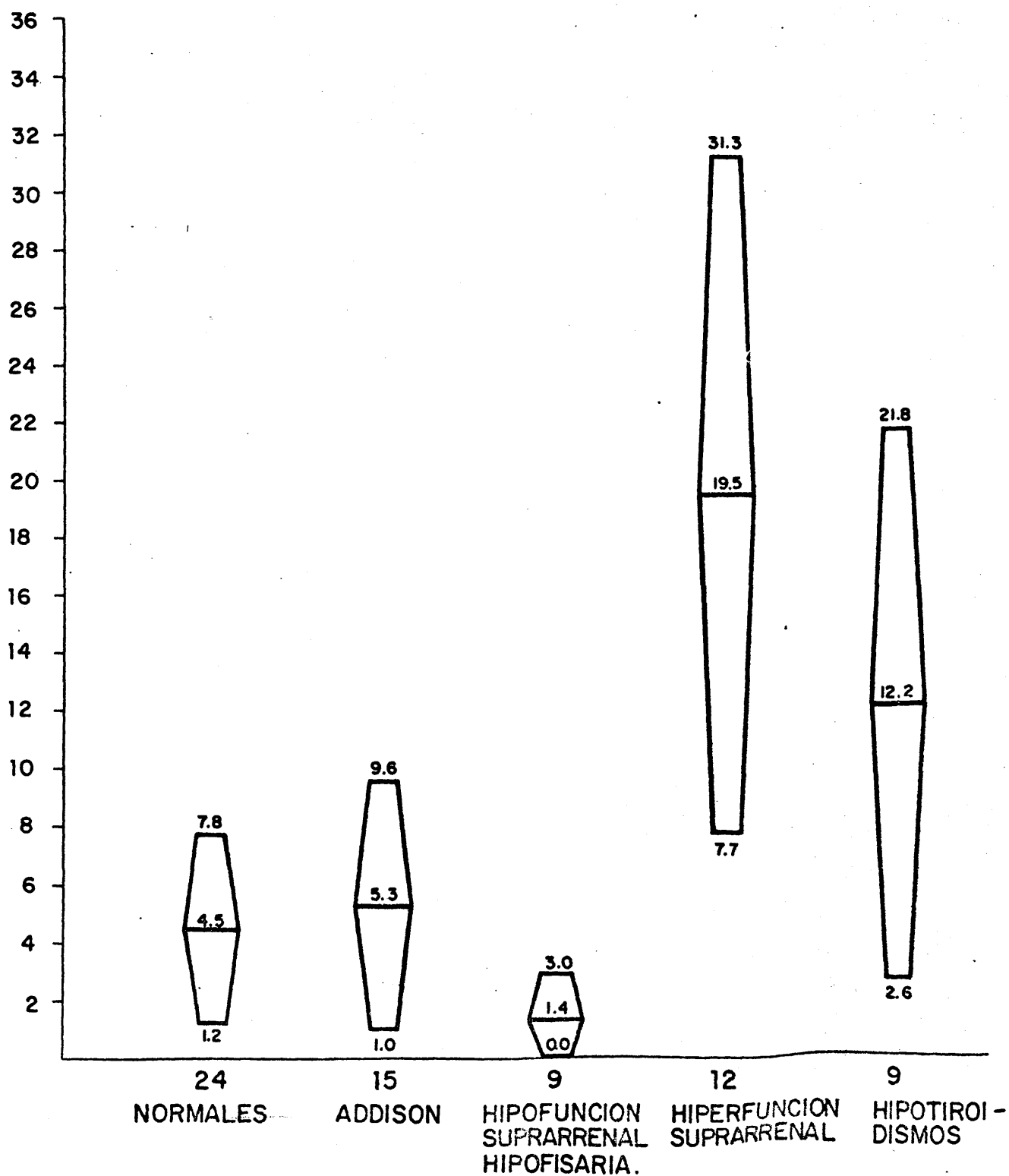


CORTISOL PLASMATICO (pg/100 ml) A LA NOCHE (Hora 22,30-23,30)

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv. Stand.</u>	<u>EM</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	24	4,5	0,5-10,1	3,3	0,67	-	-
ADDISON	15	5,3	0,0-11,8	4,3	1,10	0,62	N.S.
INSUF.SUPR.PARCIAL	7	2,5	0,0- 4,0	4,0	1,51	1,21	N.S.
MELANOSIS PSEUDO- ADDISONIANA.	5	4,3	1,3-7,5	2,9	1,29	0,13	N.S.
INSUF.SUPR.HIPOFI- SARIA.	9	1,4	0,0- 4,0	1,6	0,52	3,69	<0.001
HIPERFUNCIONES SUPRARRENALES	12	19,5	0,3-46,9	11,8	3,41	4,32	<0.001
OBESOS	11	3,6	1,2- 9,3	2,6	0,77	0,88	N.S.
HIRSUTISMOS	8	4,4	2,3- 6,7	1,8	0,65	0,10	N.S.
ACROMEGALIAS	11	5,1	0,8-16,9	4,8	1,45	0,37	N.S.
HIPOTIROIDISMOS	9	12,2	2,1-30,2	9,6	3,19	2,36	<0,0125
HEPATOPATIAS	8	6,8	1,0-16,2	4,8	1,67	1,27	N.S.
GRUPO MISCELANEO	15	4,5	0,5-13,8	3,5	0,90	0,00	N.S.
HIPERFUNCIONES	12	19,5	0,3-46,9	11,8	3,41	-	-
HIPOTIROIDISMOS	9	12,2	2,1-30,2	9,6	3,19	1,60	N.S.

**CONCENTRACION NOCTURNA (HORA 22,30 – 23,30)
DEL CORTISOL EN PLASMA ($\mu\text{g}/100\text{ml.}$) .**

$\mu\text{g}/100\text{ml.}$



Los restantes grupos excepto el de las insuficiencias adrenales - hipofisarias, poseen características similares.

3. RITMO CIRCADIANO DEL CORTISOL: CAIDA NOCTURNA.

Reuniendo las medias (\pm 1 D.S.) de los resultados obtenidos en los sujetos normales, a las 9,00 horas de la mañana (83 en total), a las 17,00 horas (11 sujetos a los que se realizó prueba de L-Vasopresina por la tarde) y a las 23,00 horas (cifras nocturnas en 24 personas), se puede confeccionar la gráfica VI-A-3, muy demostrativa del ritmo circadiano del cortisol plasmático.

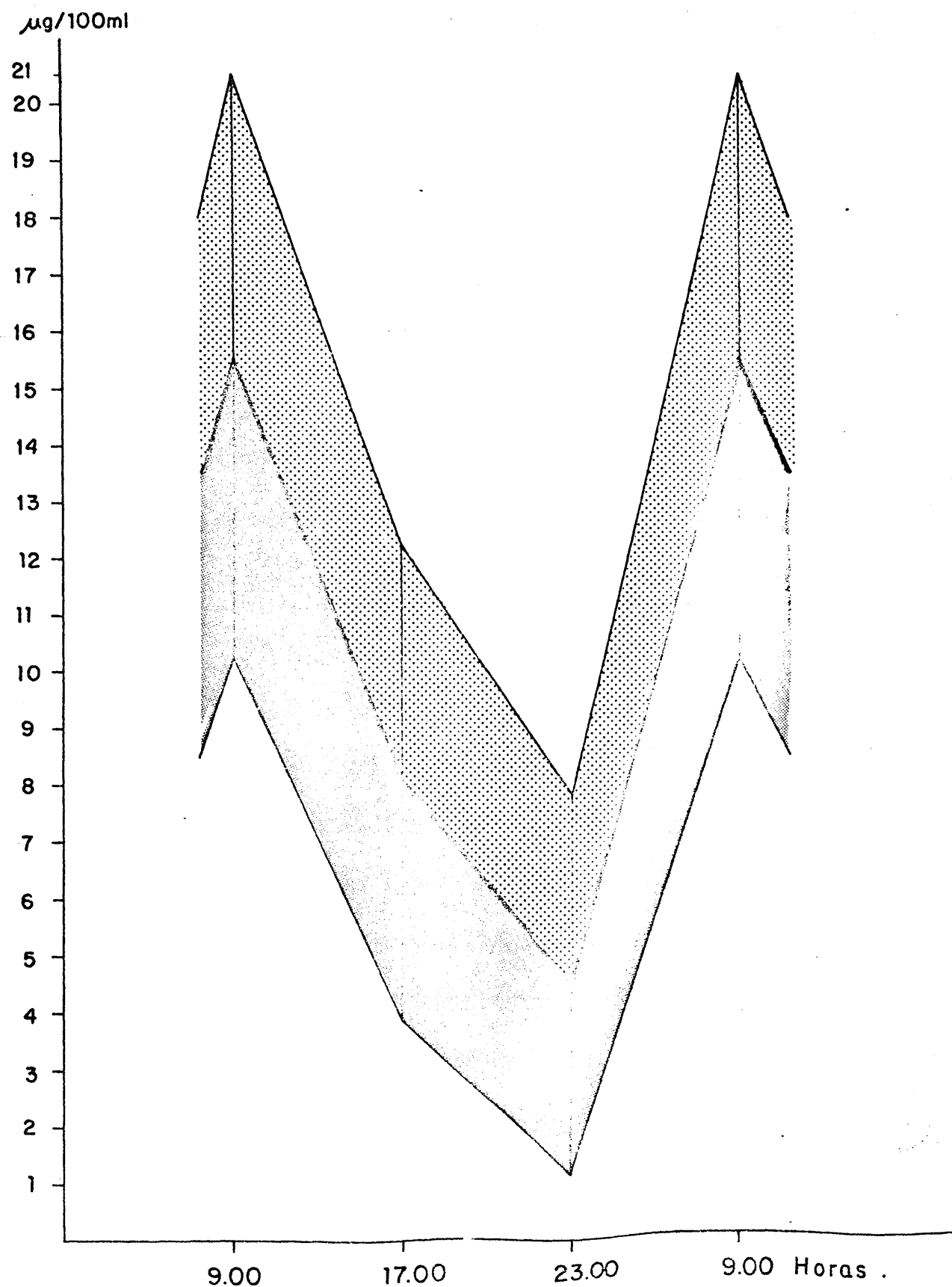
Evidentemente existe una diferencia notable entre las concentraciones del cortisol plasmático a esas distintas horas del día, diferencia que expresada en tanto por cien respecto de la basal nos informa de la caída - producida a la tarde o de la caída nocturna del cortisol (gráfica VI-A-4). Como la caída nocturna es mucho más expresiva, es la que corrientemente se ha tenido en cuenta a lo largo de esta tesis. La forma de calcularla viene dada en la siguiente fórmula:

$$\text{Caída nocturna} = 100 \times \frac{\text{Basal} - \text{Noche}}{\text{Basal}} = 100 - \frac{\text{Noche} \times 100}{\text{Basal}}$$

Esta caída nocturna se ha estudiado en los diferentes grupos considerados, obteniéndose los resultados contenidos en la tabla VI-A-4, en la que se observa que solo difieren de los normales el grupo de las hiperfunciones suprarrenales y menos significativamente, los hipotiroides, que constituyen un grupo intermedio entre ambos, como también se puede observar en la gráfica VI-A-5.

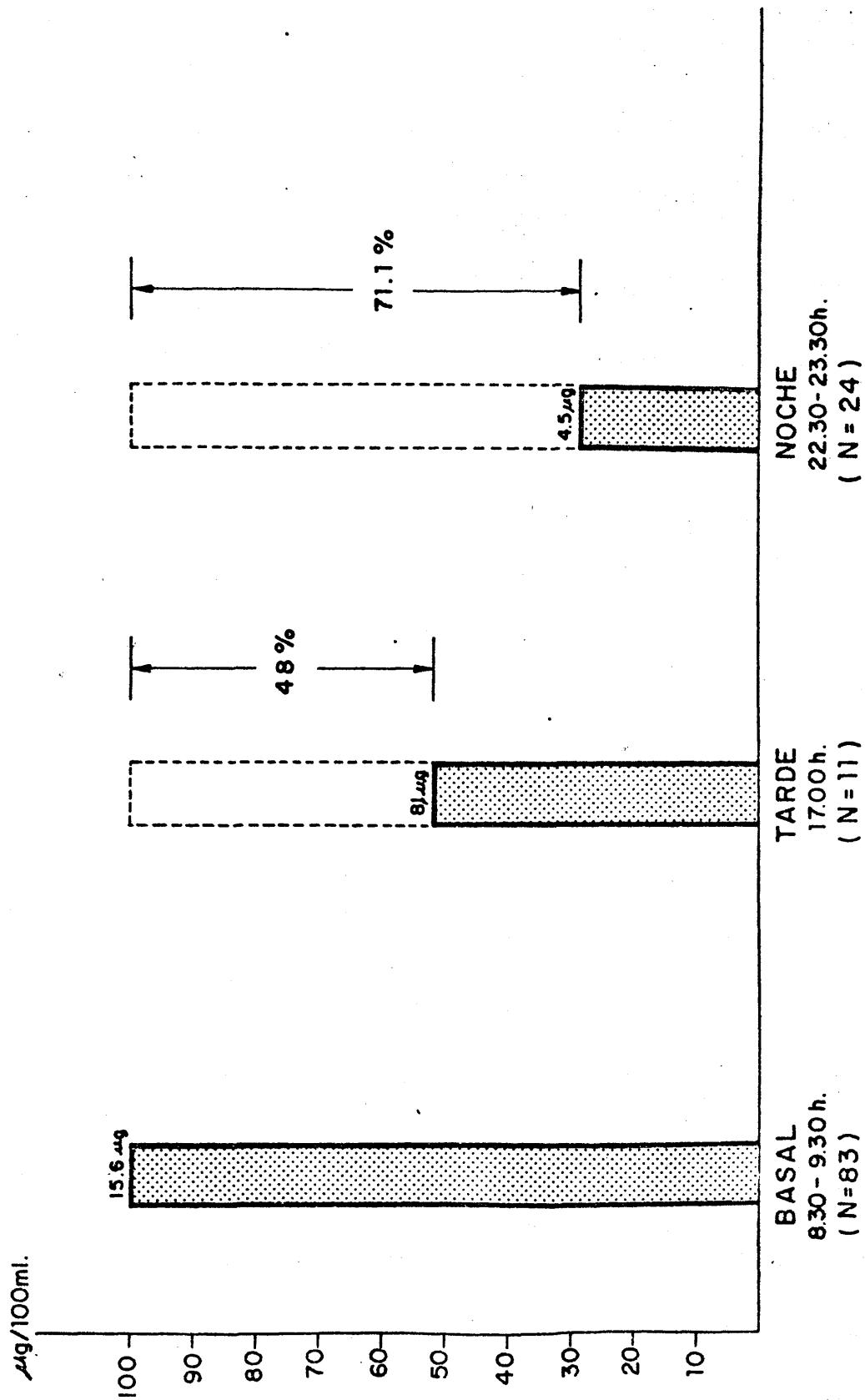
En los grupos de las hipofunciones suprarrenales es difícil valorar la caída nocturna ya que en su mayoría se trata de cifras bajas de cortisol. Pero si partimos de las cifras medias, resulta que los Addison carecen de caída nocturna (Basal 4,7. Noche 5,3 μg), mientras que las hipofun

RITMO CIRCADIANO DEL CORTISOL PLASMÁTICO EN SUJETOS NORMALES



GRAFICA VI-A-4

CAIDA NOCTURNA DEL CORTISOL PLASMATICO EN SUJETOS NORMALES .

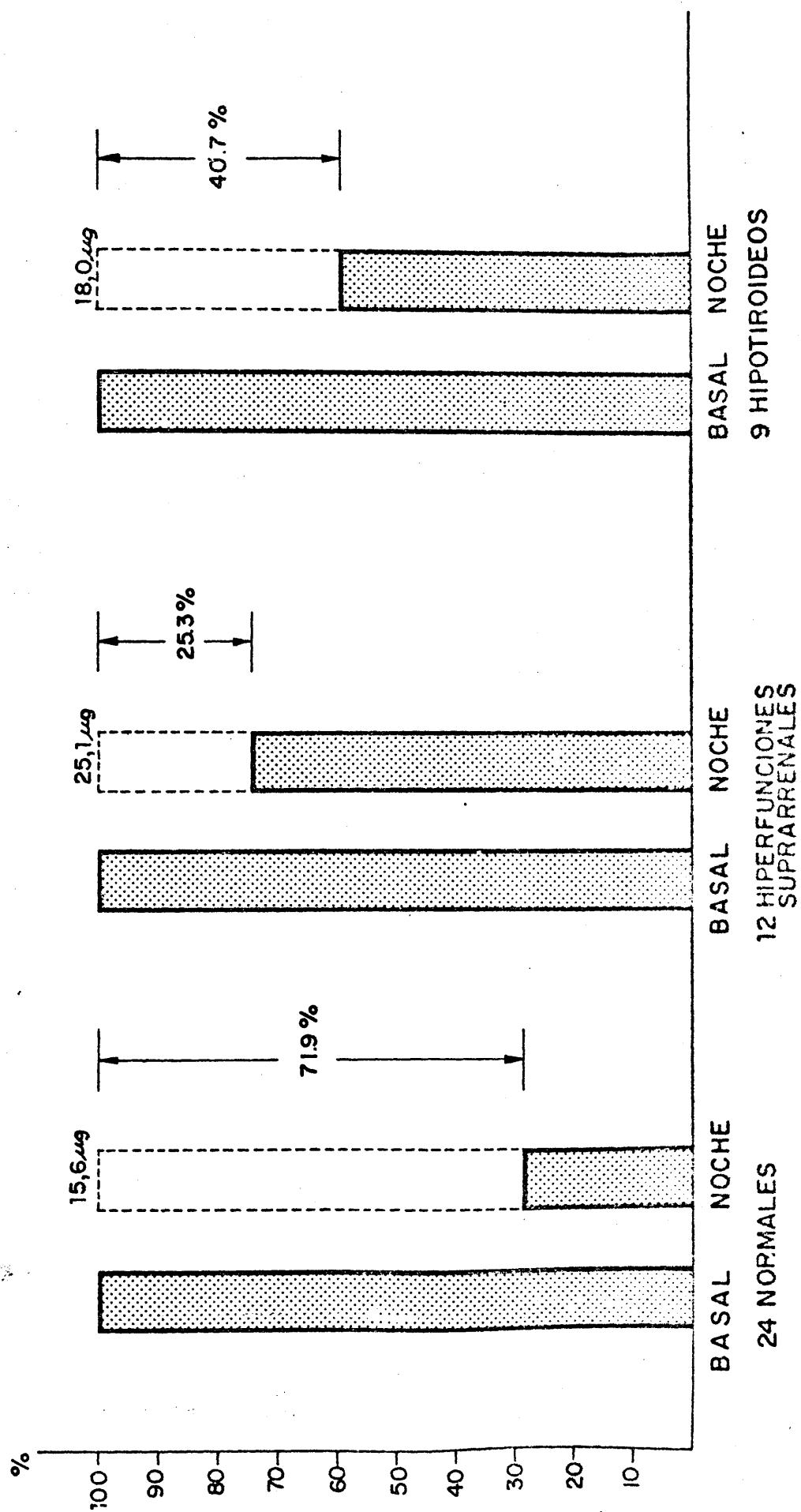


CAIDA NOCTURNA DEL CORTISOL PLASMATICO

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv. Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	24	71,9	41,0-96,6	18,3	3,74	-	-
ADDISON	15	-	-	-	-	-	-
INSUF.SUPR.PARCIAL	7	78,7	58,4-100,0	13,6	5,15	1,06	N.S.
MELANOSIS PSEUDO- ADDISONIANA.	5	63,3	47,1-94,0	21,6	9,69	0,82	N.S.
INSUF.SUPR.HIPOFI SARIA.	9	-	-	-	-	-	-
HIPERFUNCIONES	12	25,3	0,0-97,8	28,8	8,32	5,10	<0.001
OBESOS	11	69,5	47,3-92,5	26,8	8,09	0,26	N.S.
HIRSUTISMOS	8	61,6	40,8-82,6	16,8	5,95	1,46	N.S.
ACROMEGALIAS	11	63,9	15,0-95,2	25,5	7,70	0,93	N.S.
HIPOTIROIDISMOS	9	40,7	2,0-84,0	32,4	10,80	2,73	<0.01
HEPATOPATIAS	8	50,4	16,4-91,5	9,27	3,28	4,32	<0.001
GRUPO MISCELANEO	15	68,2	0,0-96,5	25,1	6,48	0,49	N.S.
HIPERFUNCIONES SUPRARRENALES	12	25,3	0,0-97,8	28,8	8,32	-	-
HIPOTIROIDISMOS	9	40,7	2,0-84,0	32,4	10,80	1,13	N.S.
HEPATOPATIAS	8	50,4	16,4-91,5	9,27	3,28	2,82	<0.01

GRAFICA VI-A-5

CAIDA NOCTURNA DEL CORTISOL PLASMATICO



ciones suprarrenales hipofisarias presentan una caída nocturna del 50% (Basal 2,8 μ g; Noche 1,4 μ g).

4. ESTÍMULO CON 25 U.I. DE ACTH SINTÉTICO EN INY. I.V. DIRECTA.

Como se mencionaba en el apartado V, se han utilizado para esta prueba el Tetracosapéptido β -1-24 corticotrofina y el Pentacosapéptido - DW-75.

Ambos preparados vienen dosificados con la misma actividad biológica, y efectivamente al considerar los resultados en grupos similares de pacientes no hemos observado diferencias entre ellos.

En ningún caso se ha observado la más mínima manifestación de intolerancia local o general.

a) A la 1/2 hora.: A la 1/2 hora de la inyección i.v. directa de 25 U. de ACTH sintético, los resultados en los diferentes grupos de pacientes considerados (tabla VI-A-5 y figura VI-A-6), muestran una diferencia claramente significativa de los normales frente al grupo de Addison, insuficiencia adrenal hipofisaria e hiperfunciones adrenales, y algo menos, pero también significativa, frente a las insuficiencias adrenales - parciales.

Comparando los resultados de los addisonianos con las insuficiencias suprarrenales parciales (tabla VI-A-6) existe una diferencia significativa, así como con las melanosis pseudo-addisonianas, pero no hay significación estadística frente a las insuficiencias suprarrenales hipofisarias.

b) A las 2 horas.: A las 2 horas del estímulo con 25 U. de ACTH - sintético en inyección i.v. directa, los resultados obtenidos se hallan agrupados en la tabla VI-A-7, en la que se observan las diferencias notables y significativas de los normales frente a los pacientes con enferme-

CORTISOL PLASMATICO A LA 1/2 HORA DE LA INY. I.V. DIRECTA DE ACTH SINTETICO

TABLA VI-A-5
=====

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	16	26,3	18,4-35,7	5,8	1,45	-	-
ADDISON	20	5,8	0,0-13,6	4,5	1,01	11,58	<0,001
INSUF.SUPR.PARCIAL	8	19,6	12,5-25,9	4,5	1,58	3,13	<0,001
MELANOSIS PSEUDO- ADDISONIANA	6	28,6	23,8-34,1	4,5	1,86	0,98	N.S.
INSUF.SUPR.HIPOFIS.	9	8,8	1,1-19,0	6,0	2,00	7,08	<0,001
HIPERFUNCIONES SUPRARRENALES	11	50,8	32,7-72,4	16,1	4,86	4,83	<0,001
OBESOS	7	24,2	14,2-41,4	8,8	3,32	0,58	N.S.
HIRSUTISMOS	5	26,1	21,3-30,3	4,47	2,00	0,80	N.S.
ACROMEGALIAS	5	29,5	19,0-45,3	10,3	4,61	0,66	N.S.
HIPOTIROIDISMO	4	34,6	22,1-47,7	13,6	6,8	1,19	N.S.
HEPATOPATIAS	3	15,8	13,5-17,4	2,1	1,19	5,58	<0,001
GRUPO MISCELANEO	10	30,1	18,4-43,2	7,2	2,28	1,40	N.S.

==:==:==:==:==:==:==:==

TABLA VI-A-6
=====

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
ADDISON	20	5,8	0,0-13,6	4,5	1,01	-	-
INSUF.SUPR.PARCIAL	8	19,6	12,5-25,9	4,5	1,58	7,34	<0,001
INSUF.SUPR.HIPOF.	9	8,8	1,1-19,0	6,0	2,00	1,33	N.S.
MELANOSIS PSEUDOADD.	6	28,6	23,8-34,1	4,5	1,86	10,75	<0,001

==:==:==:==:==:==:==:==

CORTISOL PLASMATICO A LAS 2 HORAS DE LA INI. I.V. DIRECTA DE ACTH SINTETICO

TABLA VI-A-7

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	15	37,3	22,8-52,3	6,1	1,58	-	-
ADDISON	21	6,2	0,0-15,2	4,5	1,00	25,49	<0,001
INSUF.SUPR.PARCIAL	8	24,5	19,0-31,1	4,6	1,62	4,90	<0,001
MELANOSIS PSEUDO ADD.	6	36,2	20,4-45,6	9,4	3,86	0,26	N.S.
INSUF.SUPR.HIPOFIS.	9	16,3	4,5-27,3	7,9	2,63	6,84	<0,001
HIPERFUNCION SUPRARR.	11	72,1	46,9-119,3	25,1	7,58	4,49	<0,001
OBESOS	6	33,9	16,4-54,3	12,3	5,02	0,64	N.S.
HIRSUTISMO	5	38,4	24,6-51,2	3,2	1,43	0,53	N.S.
ACROMEGALIAS	5	34,0	27,2-38,5	4,6	2,04	1,28	N.S.
HIPOTIROIDISMOS	3	38,9	25,8-59,7	18,2	10,52	0,14	N.S.
HEPATOPATIAS	3	22,2	21,6-22,8	0,6	0,34	9,37	<0,001
GRUPO MISCELANEO	10	37,6	26,0-49,3	7,1	2,24	0,10	N.S.

2025 RELEASE UNDER E.O. 14176

TABLA VI-A-8
 經度時間係統與世界時間對照表

ADDISON	21	6,2	0,0-15,2	4,5	1,00	-	-
INSUF.SUPRA.PARCIAL	8	24,5	19,0-31,1	4,6	1,62	9,63	<0,001
MELANOSIS PSEUDO ADD.	6	36,2	20,4-45,6	9,4	3,86	7,51	<0,001
INSUF.SUPR.HIPOFISARIA	9	16,3	4,5-27,3	7,9	2,63	3,59	<0,0025

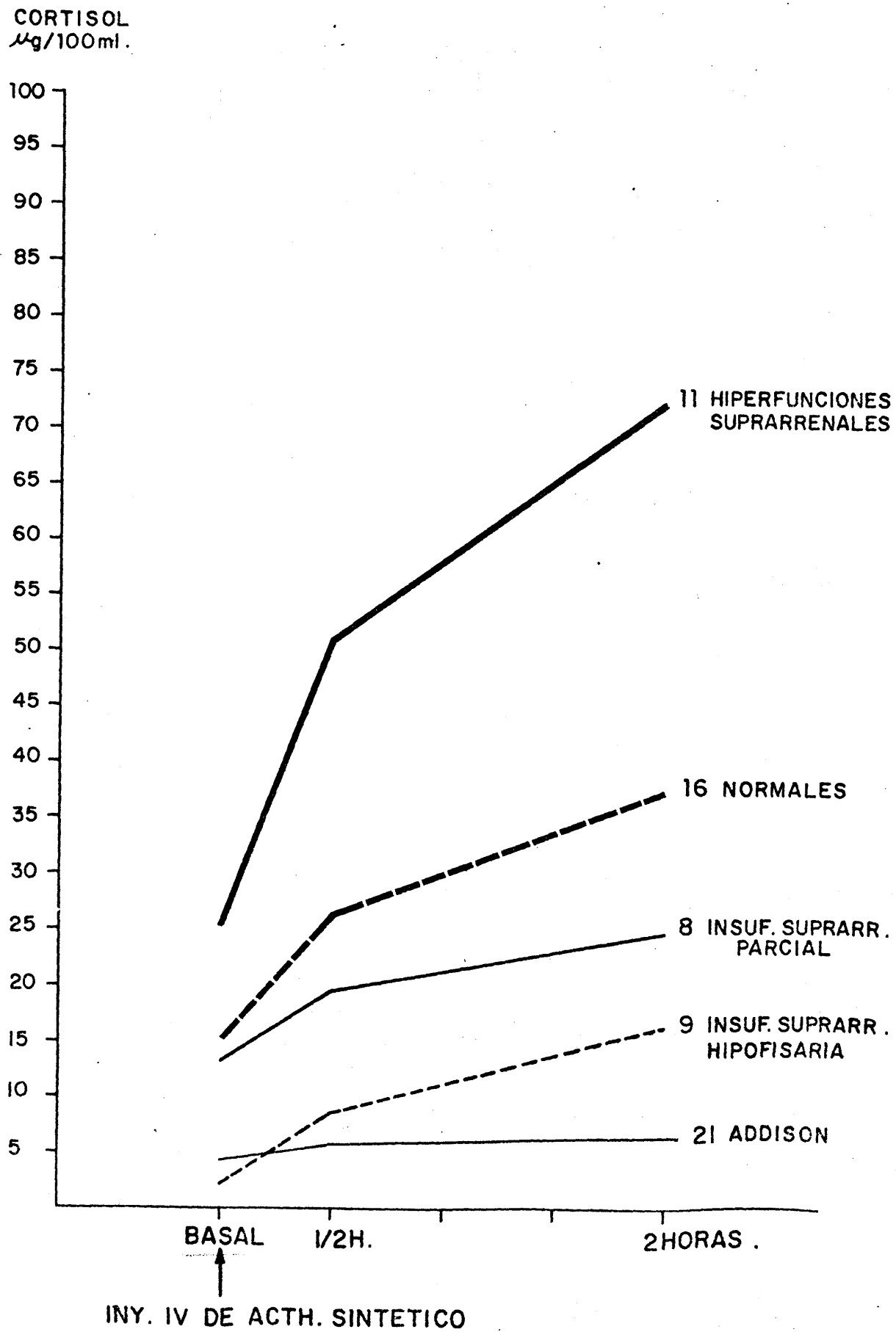
11 12 13 14 15 16 17 18 19

TABLA VI-A-9

INSUF.SUPR.HIPOFISARIA	9	16,3	4,5-27,3	7,9	2,63	-	-
INSUF.SUPR.PARCIAL	8	24,5	19,0-31,1	4,6	1,62	2,66	<0,01
HEPATOPATIAS	3	22,2	21,2-22,8	0,6	0,34	2,23	N.S.

一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、

RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO
A LA INYECCION I.V DIRECTA DE 25 U. DE ACTH SINTETICO



dad de Addison, insuficiencia suprarrenal parcial e hipofisaria, y frente a las hiperfunciones suprarrenales. En los restantes grupos los resultados son similares.

El grupo de las insuficiencias suprarrenales parciales, que a la 1/2 hora de la inyección de ACTH tenía una significación $p < 0,0025$ es ahora 0,001.

El grupo de pacientes addisonianos se diferencia ahora más claramente de la insuficiencia suprarrenal hipofisaria (tabla VI-A-8).

Los resultados en los sujetos con insuficiencia suprarrenal hipofisaria son más bajos que en las insuficiencias parciales y en la hepatopatías, pero la diferencia es solo significativa para el primer grupo. (tabla VI-A-9).

Reuniendo las medias de los resultados basales, a la 1/2 hora, y a las 2 horas del estímulo con 25 U. de ACTH sintético, se puede hacer la gráfica VI-A-6, con los grupos de pacientes más representativos.

5. PRUEBA DE ESTIMULACION MEDIANTE INFUSION I.V. DE 25 U. DE ACTH DURANTE 8 HORAS.

De esta forma se han estudiado 5 personas normales, 5 con hipofunción suprarrenal primaria (Addison), 5 hipofunciones suprarrenales de origen hipofisario, 6 hiperfunciones suprarrenales, 5 obesos y 3 acromegalias, junto con un gigantismo, (tabla VI-A-10).

El número de pacientes no permite obtener conclusiones definitivas, pero si se puede entrever las diferencias tan notables entre los normales y las hipofunciones primarias ($p < 0,001$) y secundarias, ($p < 0,005$), así como entre estas dos últimas entre sí, pues mientras en la enfermedad de Addison no hay variación del cortisol plasmático después de la infusión de ACTH, en las hipofunciones suprarrenales de origen hipofisario sí hay respuesta, aun partiendo de valores basales muy bajos, que suben el primer día a 15-32 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, y el segundo a 22-41 μg .

TABLA VI-A-10
=====

ESTIMULO DEL CORTISOL PLASMATICO MEDIANTE INFUSION DE 2 U.I. DE ACTH DURANTE 8

PRIMER GOTEO

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
NORMALES	4	54,8	35,8-80,4	18,8	9,40	-	-
ADDISON	5	1,7	0,0- 4,0	2,03	0,91	5,64	<0,001
HIPOF.SUPR.HIPOFIS.	4	25,4	15,5-32,3	7,76	3,88	2,88	<0,0125
HIPERFUNCION SUPR.	5	90,1	60,6-146,7	33,4	14,97	1,99	N.S.
OBESOS	5	58,6	44,1-73,6	13,25	5,94	0,34	N.S.
ACROMEGALIAS	4	58,9	45,2-86,5	18,7	9,35	0,30	N.S.

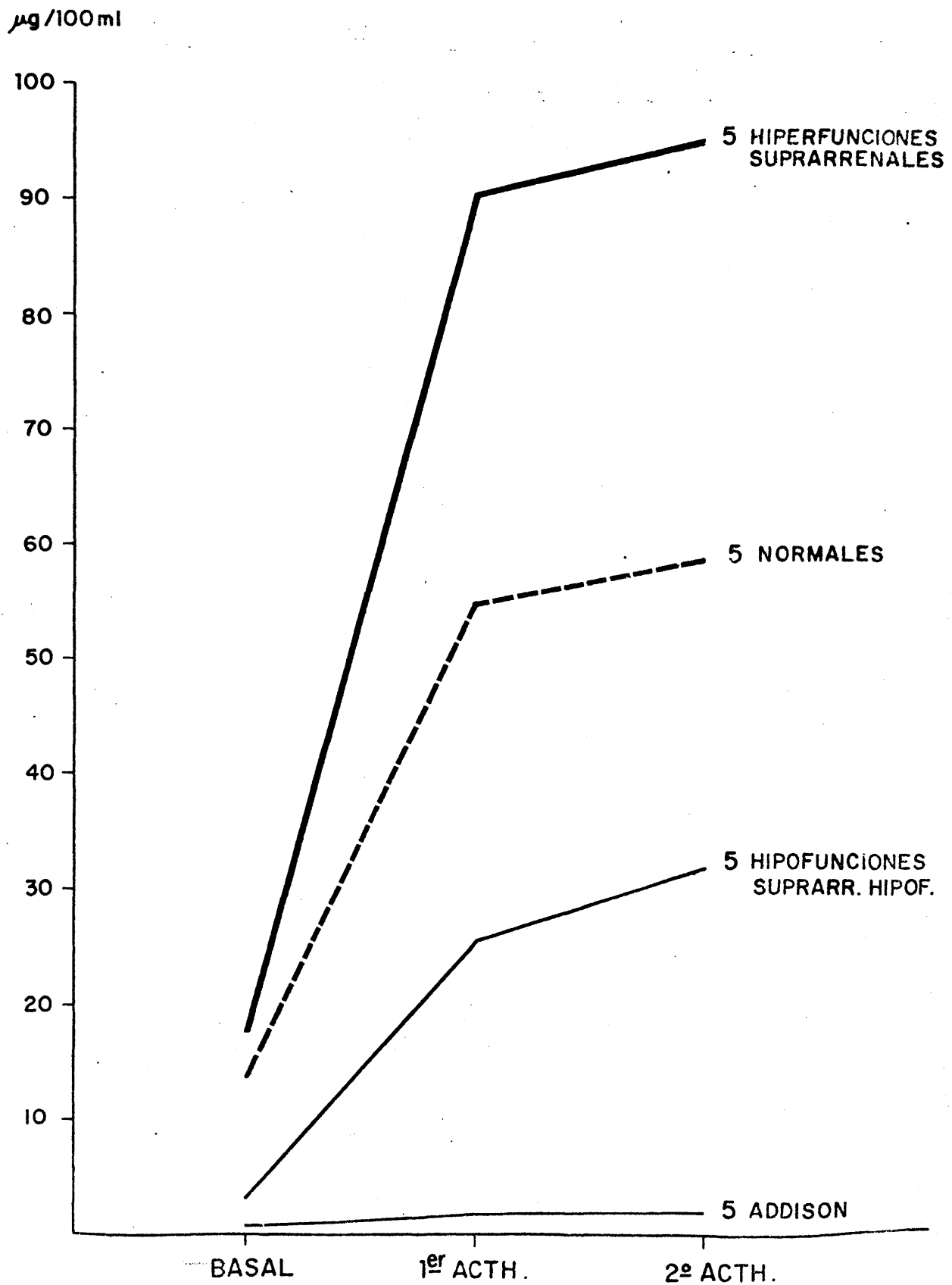
SEGUNDO GOTEO

NORMALES	5	58,5	46,8-74,3	12,4	5,56	-	-
ADDISON	5	1,9	00,0- 6,3	2,82	1,26	9,92	<0,001
HIPOF.ADR.HIPOF.	4	31,8	22,6-41,2	9,10	4,55	3,71	<0,005
HIPERF. SUPRARR.	5	95,3	71,0-138,5	27,4	12,28	2,72	<0,0125
OBESOS	5	58,2	50,8-73,5	9,18	4,11	0,04	N.S.
ACROMEGALIAS	3	53,0	41,2-61,8	10,65	6,15	0,66	N.S.

-:-:-:-:-

CORTISOL EN PLASMA .

ESTIMULACION CON 25 U. DE ACTH EN INFUSION INTRAVE-
NOSA DURANTE 8 HORAS .



Las diferencias entre el grupo de normales y el de hiperfunciones - son menos netas ($p < 0,0125$ el 2º día de ACTH), quizá porque se han incluído casos de dudosa filiación, alguno de los cuales no se consideró justificable intervenir quirúrgicamente.

Finalmente, el grupo de obesos y acromegálicos se comportan en conjunto como los normales (p , N.S.) igual que sucedía con el estímulo de ACTH en inyección i.v. directa.

Con las medias del cortisol plasmático de los diferentes grupos de pacientes, se pueden formar la gráfica VI-A-7, muy demostrativa.

6. SUPRESION RAPIDA CON 1 mg. DE DEXAMETASONA NOCTURNA.

La prueba se ha realizado en 21 normales, 12 obesos y 8 hiperfunciones suprarrenales, observándose en la tabla VI-A-11 y en la gráfica VI-A-8, cómo se diferencian perfectamente el grupo de las hiperfunciones con los otros dos (normales y obesos) cuyos resultados se confunden.

En el grupo de las hiperfunciones, la dispensión es muy grande, pero solamente en un caso el resultado (6,1 μ g) se superpone con los normales.

7. PRUEBA DE RESERVA HIPOFISARIA CON LA INY. I.M. DE 10 U.I. DE LISINA-8-VASOPRESINA.

La respuesta ha sido nula o muy escasa en los 4 casos de hipofunción suprarrenal hipofisaria estudiados, así como en un caso de adenoma suprarrenal y en otro de carcinoma. suprarrenal.

En la tabla VI-A-11 bis, se han recogido esos resultados partiendo de las medias de los correspondientes grupos. Los resultados individuales serán considerados más adelante al hablar de cada grupo de pacientes (Sección VI-D).

En el grupo de normales se ha hecho un estudio estadístico comparati

● 2019 年 12 月 1 日

2025 2024 2023 2022 2021 2020 2019 2018 2017 2016 2015

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS

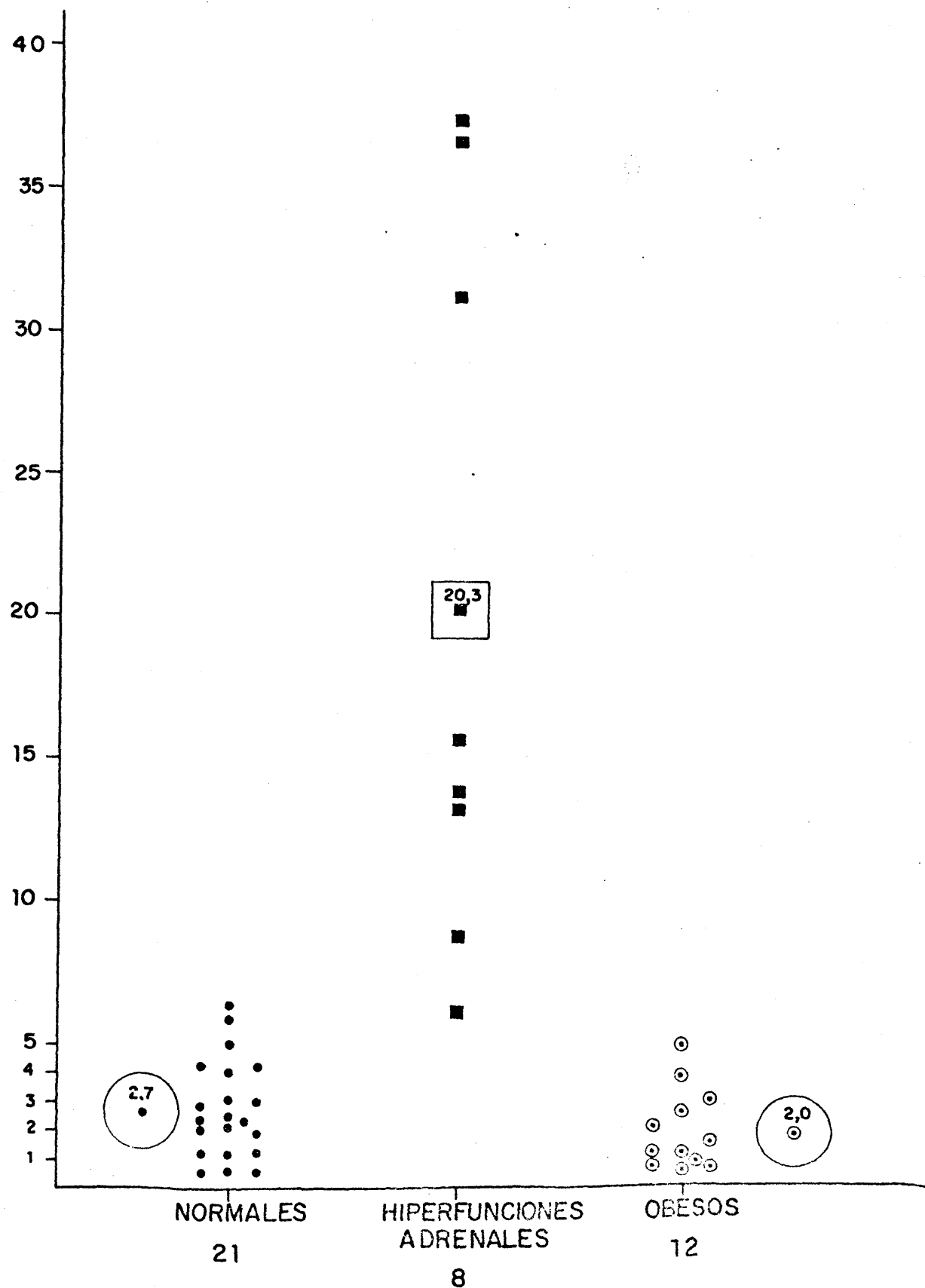
RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMÁTICO AL ESTÍMULO I.M. CON 10 U.I.
DE LISINA-8-VASOPRESINA

VALORES MEDIOS

● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●

RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMÁTICO A LA SUPRESION NOCTURNA CON 1mg. DE DEXAMETASONA (NUGENT)

$\mu\text{g}/100\text{ml}$



vo de los resultados obtenidos por la mañana y por la tarde (tabla VI-A-12) expresando el aumento conseguido en la concentración plasmática del cortisol no sólo en cifras absolutas sino también como porcentaje respecto de la basal. Los resultados han sido significativos sobre todo expresados - como porcentaje de la basal, lo que unido a que por la mañana en algunos casos falla la respuesta a la Lisina-8-Vasopresina, hace más valorable la prueba realizada por la tarde.

También se han comparado el grupo de las hipofunciones suprarrenales hipofisarias con los normales (tabla VI-A-13), pero solamente por la mañana, ya que por la tarde solo se estudió un solo caso de hipofunción hipofisaria. Las diferencias son significativas tanto considerando las concentraciones finales del cortisol plasmático como el aumento absoluto. No se ha considerado el aumento relativo en tanto por ciento respecto de la basal por ser algunos valores basales cero (en las hipofunciones adrenales hipofisarias), y por tanto su valoración engañosa.

Todos estos resultados se pueden observar gráficamente en la gráfica VI-A-9. Las hipofunciones adrenales hipofisarias tienen basales bajas y no responden a la Lisina-8-Vasopresina. Los casos de adenoma y carcinoma suprarrenal tampoco responden pero las basales son elevadas. La hiperplasia responde mucho especialmente por la tarde.

8. FLUORESCENCIA INESPECIFICA DEL PLASMA.

Ya se menciona en el apartado IV de esta Tesis, que al añadir hidroxilamina la fluorescencia de la muestra de sol. standard de cortisol se reduce a la misma del blanco, mientras que una muestra de plasma en las mismas condiciones seguiría dando una fluorescencia algo mayor que el blanco, siendo esa diferencia lo que se denomina fluorescencia inespecífica.

Con las técnicas rápidas de fluorescencia para medir cortisol en plasma, como la de Mattingly (1962), esa fluorescencia inespecífica ya se conocía fundándose en métodos isotópicos, cálculos indirectos y en estudios de sujetos suprarrenalectomizados o tratados con dosis supresoras de corticoides. Con la adición de la hidroxilamina (Martin y Martin, 1967), se

ESTIMULO CON LISINA-8-VASOPRESINA (10 U.I. EN INY. I.M.): RESULTADOS OBTENIDOS
POR LA MAÑANA Y POR LA TARDE EN NORMALES

		<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
AUMENTO ABSOLUTO	{ Mañana...	12	8,6	0,0-18,0	6,01	1,73	-	-
	{ Tarde....	11	13,9	8,4-21,4	4,93	1,48	2,32	<0,025
AUMENTO RELATIVO	{ Mañana...	12	81,5	0,0-375,0	100,6	29,07	-	-
	{ Tarde....	11	245,2	71,0-540,0	136,6	41,26	3,24	<0,0025

14-00000

TABLA VI-A-13

ESTIMULO CON L-8-VASOPRESINA EN NORMALES E HIPOFUNCIONES SUPRARRENALES

		<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Rango</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>	
CORTISOL EN PLASMA HORA 10,00	{	NORMALES	12	22,6	7,4-35,8	6,84	1,97	-	-
		HIPOADRENAL HIPOFISARIA	4	3,4	0,5- 6,8	2,83	1,41	7,93	<0,001
AUMENTO ABSOLUTO	{	NORMALES	12	8,6	0,0-18,0	6,01	1,73	-	-
		HIPOADRENAL HIPOFISARIA	4	1,1	0,0-2,3	1,05	0,52	4,14	<0,001

• • • • •

CORTISOL
PLASMÁTICO

GRAFICA VI-A-9
ESTIMULO CON LISINA-8 - VASOPRESINA
10 U.I EN INY. I.M.

$\mu\text{g}/100\text{ml}$

80

70

60

50

40

30

20

10

HIPERPLASIA (1).
 $29,4 \mu\text{g} = 60\%$

ADENOMA (1).

NORMALES (11)

$13,9 \mu\text{g} = 171,6\%$

HIPOF. HIPOFISARIA (1).
 $2,3 \mu\text{g}$

18.00 H.

17.00 H.

HIPERPLASIA (1).
 $17,4 \mu\text{g} = 40,1\%$

CARCINOMA (1).

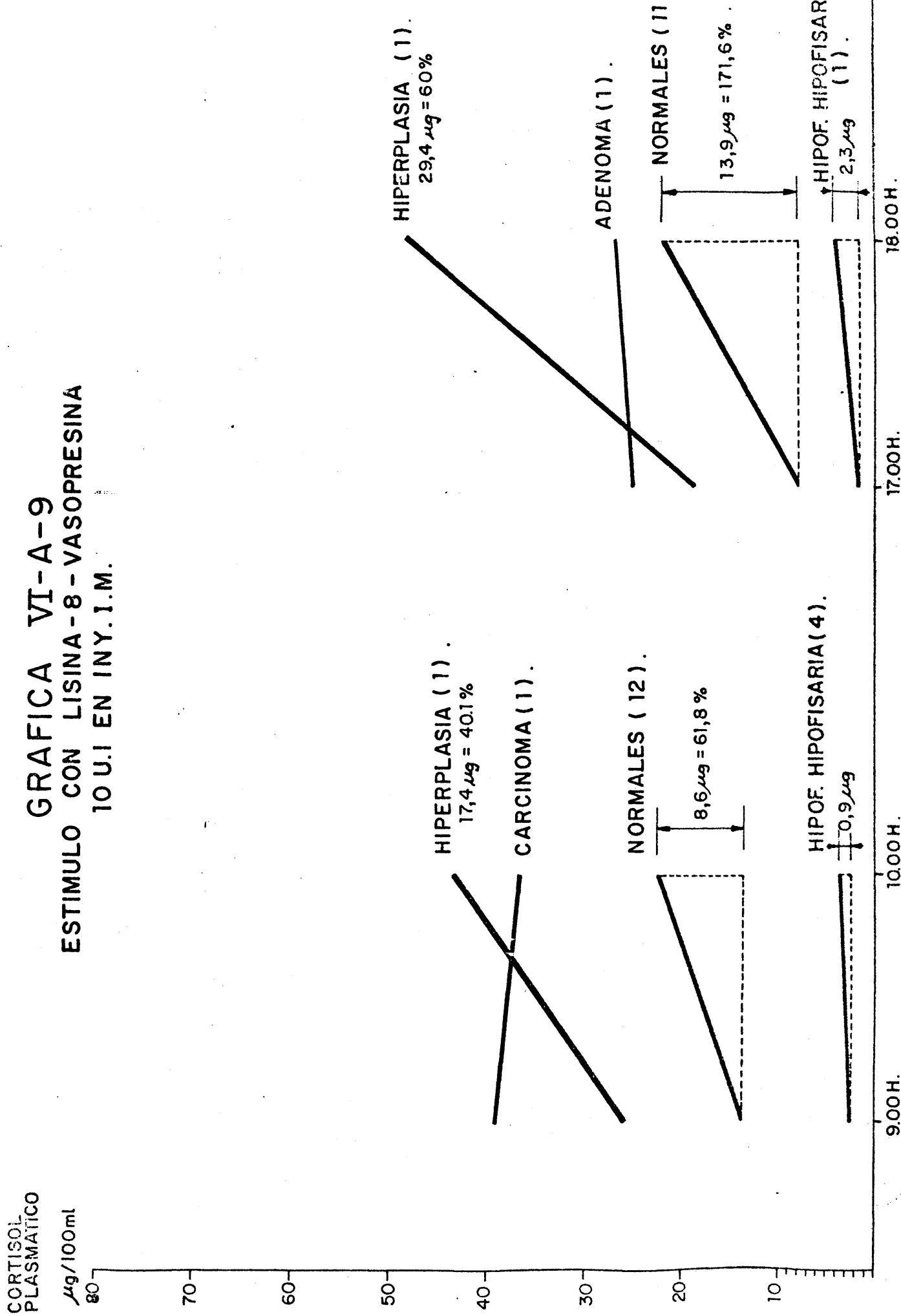
NORMALES (12).

$8,6 \mu\text{g} = 61,8\%$

HIPOF. HIPOFISARIA (4).
 $0,9 \mu\text{g}$

10.00 H.

9.00 H.



puede medir la fluorescencia inespecífica de cada plasma, y en cada determinación (gráfica VI-A-10). De esa forma si el plasma es de un sujeto con hipofunción suprarrenal o suprarrenalectomizado, o de cualquier otro paciente, podemos saber si lo que lee es cortisol, o si solo es fluorescencia inespecífica.

Esta fluorescencia inespecífica se ha estudiado en más de 500 plasmas bajo diferentes ángulos de vista: tipo de pruebas realizadas, diagnóstico, edad y sexo, presencia de hemólisis en la muestra, tiempo de permanencia del plasma en nevera hasta la realización del análisis.

En la tabla VI-A-14, se recogen las medias de la fluorescencia inespecífica de 455 plasmas agrupados según el tipo de prueba realizada y el diagnóstico.

Se puede observar a simple vista como no existen diferencias valorables ni entre las diferentes determinaciones dentro de un mismo grupo de pacientes ni entre los diferentes grupos de sujetos considerados dentro de un mismo tipo de determinación, como se puede apreciar mejor en las tablas VI-A-15, y VI-A-16, realizadas con cálculo estadístico a partir de las medias más divergentes. Solamente en la prueba de estimulación con ACTH i.v. directo, a las 2 horas, el grupo de enfermos con insuficiencia suprarrenal primaria (Addison) muestran una fluorescencia de solo 1,6 μg frente a 3,8 μg de los normales, diferencia que es significativa ($p < 0,005$) pero que carece de valor teniendo en cuenta la no significancia del grupo de las hiperfunciones frente a los normales.

Tampoco se puede relacionar la fluorescencia inespecífica del plasma con la edad ni con el sexo de los pacientes, como se puede observar en la tabla VI-A-17, aunque en las mujeres se observa cierto descenso con la edad, y mayor fluorescencia inespecífica después del estímulo con ACTH i.v. directo.

A veces después de extraer la sangre para la determinación del cortisol, la muestra se hemolizaba y el plasma quedaba tendido de rojo. Clasificando los plasmas en cuatro grupos según el grado de hemólisis de las muestras, las medias son bastante similares unas a otras (tabla VI-A-18).



CORTISOL
 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.



FLUOR. INESP.
 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

	LECTURA	-B	CORTISOL $\mu\text{g}/100\text{ml}$	FLUOR. INESP. $\mu\text{g}/100\text{ml}$
B	7,0	0	0	0
BH	7,0			
ST	87,0	80,0	100 μg	0
STH	7,0			
P	20,0	11,0	13,7 μg	$\frac{9-7}{80} \times 100 = 2,5$
PH	9,0			

EJEMPLO

LECTURA

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

B

BH

ST

STH

P

PH

CORTISOL
 $\mu\text{g}/100$

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

SOL. STANDARD
100 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

PLASMA

13,7 mg

2,5 μg

TABLA VI -A- 14

FLUORESCENCIA INESPECIFICA DEL PLASMA (µg/100 ml)

SEGUN TIPO DE PRUEBA Y DIAGNOSTICO

	BASAL		TARDE		NOCHE		1H. ACTH		2H. ACTH		LISINA-8-VASOPRESINA		TARDE		NUGENT	
	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media
LES	42	2,8	10	3,2	6	3,4	10	2,7	11	3,8	10	4,4	10	4,9	20	2,0
SON	13	1,8	1	1,2	11	2,5	11	1,4	12	1,6	1	0,6	1	1,2	0	-
IVA ADRENAL	8	1,7	0	-	7	1,9	8	1,7	8	2,9	0	-	0	-	0	-
NUIDA	5	2,7	1	3,7	5	1,8	5	2,2	5	3,9	1	2,4	1	3,7	0	-
OSIS	5	2,7	1	3,7	5	1,8	5	2,2	5	3,9	1	2,4	1	3,7	0	-
ADRENAL	10	2,6	1	4,0	9	2,2	10	2,8	10	2,6	5	2,9	1	3,4	0	-
ISARIA	10	2,6	1	4,0	9	2,2	10	2,8	10	2,6	5	2,9	1	3,4	0	-
REFUNCION	5	1,7	2	4,0	4	1,0	4	3,3	4	3,3	3	2,4	3	2,5	5	2,8
ADRENAL	5	1,7	2	4,0	4	1,0	4	3,3	4	3,3	3	2,4	3	2,5	5	2,8
ADAD	7	2,0	1	2,6	5	3,3	6	2,0	6	2,7	1	1,7	0	-	7	2,4
ISMOS	6	2,0	0	-	4	2,0	5	2,3	5	3,5	1	3,0	0	-	0	-
EGALIAS	4	1,6	2	2,2	3	1,8	3	2,2	3	3,8	3	1,9	2	2,5	0	-
TIROIDEOS	2	1,7	0	-	2	3,4	2	2,2	2	4,3	1	6,4	0	-	0	-
OPATIAS	4	1,2	0	-	4	2,3	3	2,1	3	2,3	1	0,5	0	-	0	-
BLANEO	18	2,8	2	2,5	12	2,3	10	4,5	10	5,0	4	2,7	2	2,1	0	-
<u>TOTAL</u>	<u>124</u>	<u>2,4</u>	<u>20</u>	<u>3,0</u>	<u>72</u>	<u>2,3</u>	<u>77</u>	<u>2,5</u>	<u>79</u>	<u>3,2</u>	<u>31</u>	<u>3,1</u>	<u>20</u>	<u>3,7</u>	<u>32</u>	<u>2,2</u>

FLUORESCENCIA INESPECIFICA

SEGUN TIPO DE PRUEBA

A) SUJETOS NORMALES

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Desv.St.</u>	<u>E M</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Basal.....	42	2,8	1,69	0,26	-	-
Noche.....	6	3,4	2,05	0,83	0,63	N.S.
2H. ACTH i.v.	11	3,8	1,44	0,43	1,90	N.S.
L-Vasopresina tarde	10	4,9	3,08	0,97	2,00	N.S.
Nugent.....	20	2,0	1,59	0,35	1,95	N.S.

B) ADDISON

Basal.....	13	1,8	2,16	0,60	-	-
Noche	11	2,5	2,24	0,67	0,82	N.S.
2H. ACTH i.v.	12	1,6	2,23	0,64	0,21	N.S.

C) HIPERFUNCION SUPRARRENAL

Basal	5	1,7	1,36	0,60	-	-
Noche	4	1,0	0,84	0,42	0,87	N.S.
2H. ACTH i.v.	4	3,3	0,34	0,17	2,64	N.S.
Nugent	5	2,8	1,16	0,52	1,44	N.S.

D) TOTAL.

Noche	72	2,3	1,17	0,20	-	-
L-Vasopresina tarde	20	3,7	2,66	0,59	2,16	N.S.

FLUORESCENCIA INESPECIFICA EN LOS DIFERENTES GRUPOS DIAGNOSTICOS

A) BASAL.

	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Desv.St.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
Normales.....	42	2,8	1,69	0,26	-	-
Addison	13	1,8	2,16	0,60	1,67	N.S.
Hiperfuncion suprarrenal ...	5	1,7	1,36	0,60	1,83	N.S.

B) NOCHE

Normales.....	6	3,4	2,05	0,83	-	-
Addison	11	2,5	2,24	0,67	0,85	N.S.
Hiperfunción suprarrenal ...	4	1,0	0,84	0,42	2,55	N.S.
Total	72	2,3	1,7	0,20	1,24	N.S.

C) 2 H. ACTH i.v. DIRECTO

Normales	11	3,8	1,44	0,43	-	-
Addison	12	1,6	2,23	0,64	2,89	0,005
Hiperfunción suprarrenal ...	4	3,3	0,34	0,17	1,08	N.S.

D) NUGENT

Normales	20	2,0	1,59	0,35	-	-
Hiperfunción suprarrenal ...	5	2,8	1,16	0,52	1,30	N.S.
Obesos	7	2,4	1,75	0,66	0,60	N.S.

FLUORESCENCIA INESPECIFICA SEGUN SEXO Y EDAD

A) BASALES

	<u>0 - 19</u>		<u>20 - 29</u>		<u>30 - 39</u>		<u>40 - 60</u>		<u>Total</u>	
	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Nº</u>	<u>Media</u>
Varones	4	2,0	21	3,2	14	1,6	18	2,1	57	2,4
Mujeres	11	3,1	16	2,8	15	2,0	25	1,9	67	2,4

B) 2 HORAS ACTH I.V. DIRECTO

Varones	2	2,1	3	2,3	12	2,0	16	2,5	33	2,9
Mujeres	7	4,8	9	4,1	14	3,5	16	3,7	46	3,9

TABLA VI - A - 18

FLUORESCENCIA INESPECIFICA

INFLUENCIA DE LA HEMOLISIS

<u>Grado de hemolisis</u>	<u>Nº de casos</u>	<u>Fluoresc. inespecif.</u> <u>media</u>
Nula (⊙)	479	2,6 µg/100 ml.
Escasa (+)	13	3,4
Moderada (++)	22	2,9
Intensa (+++)	3	2,4

Además en siete ocasiones en que se repitieron las mismas determinaciones no hubo variación apreciable entre los plasmas transparentes (media 2,8 μg) y los teñidos (media 2,2 μg).

Agrupados los plasmas teniendo en cuenta el número de días de permanencia en nevera (-4° a 0° C) antes de realizar la determinación del cortisol, no se observan diferencias valorables entre su conservación durante unas horas o hasta 45 días (tabla VI-A-19), plazo máximo al que se han llegado a retrasar algunas determinaciones analíticas.

En 29 sujetos se repitió la misma prueba en dos ocasiones, en su mayoría la basal a las 9,00 horas, y en otros la noche y a las 2 horas de la inyección i.v. directa de ACTH. Entre ambas determinaciones hubo una diferencia de días o de algunas semanas. El resultado (tabla VI-A-20) es casi idéntico en conjunto aunque individualmente había 5 casos con una diferencia de 3,2 μg , y uno solo de 5,1 μg que correspondía a un cáncer suprarrenal de sintomatología florida.

Con el único parámetro que sí se ha observado una relación clara ha sido con el modo de agitación para realizar la extracción del cortisol del plasma, en el primer paso de la metódica.

Ya se ha hablado en el apartado IV (gráfica IV-4) que la fluorescencia inespecífica es significativamente mayor ($p < 0,001$) con la agitación manual fuerte durante 10 min ($10,6 \mu\text{g} \pm 2,54$) que con la agitación mecánica suave durante 20 min. ($3,1 \pm 1,7$), mientras que el cortisol plasmático debidamente corregido es de 16,6 μg ($\pm 5,42$) y 15,4 ($\pm 6,11$) $\mu\text{g}/100\text{ml}$. respectivamente.

DIAS QUE PERMANECIERON LOS PLASMAS EN NEVERA (-4° a 0°C.)

<u>Días</u>	<u>Número</u>	<u>Media</u>
0	135	2,59
1	70	2,16
2	43	2,47
3-5	73	3,27
6-10	95	2,47
11-20	57	2,17
21-30	26	3,60
31- 45	20	3,26
Total.....	519	2,65

● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●

FLUORESCENCIA INESPECIFICA REPETIDA EN 29 SUJETOS EN LAS MISMAS CONDICIONES

		<u>MEDIA: µg/100ml</u>	
	<u>Número</u>	<u>1ª</u>	<u>2ª</u>
Basal.....	20	2,42	2,72
Noche.....	6	2,63	2,31
2H. ACTH..	<u>3</u>	<u>2,70</u>	<u>2,66</u>
<u>Total.....</u>	29	2,49	2,63

RESULTADOS

B) POR GRUPOS DE SUJETOS CONSIDERADOS

*** *****

RESULTADOS

B) POR GRUPOS DE SUJETOS CONSIDERADOS

=====
=====

1. Normales.
2. Addison.
3. Reserva adrenal disminuida.
4. Melanosis no addisonianas.
5. Insuficiencia suprarrenal hipofisaria.
6. Hiperfunciones suprarrenales.
7. Obesidad.
8. Hirsutismos idiopáticos.
9. Acromegalia.
10. Hipotiroidismo.
11. Hepatopatias.
12. Grupo miscelaneo.

1. SUJETOS NORMALES.

Cortisol basal.

Este grupo de 83 sujetos normales que se consideran a continuación esta integrado por 23 personas auténticamente normales, 28 donantes del servicio de transfusiones, 20 enfermos ingresados que estaban en buen estado general, no sometidos a ningún stress especial aparte de su ingreso, y cuya enfermedad se consideró no interfería la función suprarrenal, p. ej. algunos nódulos tiroideos normofuncionales; además otros 12 sujetos con astenia ligera, pero sin signos de enfermedad orgánica, y cuya función suprarrenal estimada por otros medios era normal.

En 83 personas normales de ambos sexos, la media ha sido de 15,6 μg de cortisol por 100 ml. de plasma, con una desviación standard de 5,4 μg .

Los valores han oscilado ampliamente desde 3,8 a 27,6 μg . Pero de ellos el 72% estaba comprendido entre 10,2 y 21,0 μg ($15,6 \pm 5,4$). Sólo en dos casos la cifra era inferior a 5 μg (nº 63 y 64). Había 7 individuos con una cifra de cortisol entre 5 y 10,2 μg . En 14 casos era superior a 21,0 μg y de ellos 4 sobrepasaban los 25 μg .

Individualmente, los valores han sido los siguientes (tabla VI-B-1).

Si consideramos el sexo, la media en 46 varones ha sido de 15,7 $\mu\text{g}/100$ ml. mientras en 37 mujeres era de 15,4 $\mu\text{g}/100$ ml., cifras casi idénticas.

Tampoco hemos apreciado diferencias significativas al ordenar los 83 normales en grupos de edades, como se puede observar en la tabla VI-B-2, en donde el cálculo estadístico se ha realizado solamente entre los valores más dispares.

Sin embargo, a partir de los 30 años aparenta iniciarse una tendencia a cifras basales algo menores.

Gráficamente esos resultados se recogen en la gráfica VI-B-1.

Cortisol nocturno. Caída nocturna. Ritmo circadiano.

En 24 sujetos normales los valores del cortisol nocturno han oscilado entre 0,5 y 10,1 μg , con una media de $4,5 \pm 3,3$ μg (tabla VI-B-3).

La caída nocturna del cortisol plasmático ha sido siempre, a excepción de un solo caso (nº 5), superior al 50%, llegando en varias ocasiones a casi el 100%, pues el cortisol nocturno alcanzaba valores cercanos a cero. La media ha sido del 71,9% (tabla VI-B-3).

Estimulación con ACTH sintético en inyección i.v. directa.

Aunque ya a la media hora se observa una estimulación notable, la respuesta es máxima a las 2 horas, en que los valores basales del cortisol se duplican o triplican, alcanzando cifras de 30 a 50 $\mu\text{g}/100$ ml. con una media de 37,3 μg .

CORTISOL BASAL EN 83 INDIVIDUOS NORMALES

<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>µg/100 ml</u>	<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>µg/100 ml</u>
1	J.N.B.	35	V	18,7	33	J.DD.G.	37	V	7,2
2	C.M.A.	39	V	17,8	34	A.L.S.	32	V	11,0
3	A.R.M.	15	M	10,7	35	A.L.G.	27	M	14,3
4	H.F.D.	19	M	17,2	36	CH.R.	44	V	16,7
5	L.P.G.	55	M	12,1	37	JL.G.	28	V	23,5
6	L.F.R.	19	V	10,5	38	RM.M.V.	18	M	26,3
7	ML.T.C.	34	M	12,5	39	D.	18	V	23,4
8	M.A.S.	24	M	15,0	40	D.	21	V	14,9
9	F.P.V.	45	V	15,9	41	D.	21	V	14,9
10	MT.P.P.	9	M	21,7	42	D.	36	V	21,9
11	P.M.P.	51	M	22,4	43	D.	19	V	14,0
12	G.A.C.	35	M	20,3	44	D.	48	M	10,5
13	MT.S.R.	31	M	10,5	45	D.	18	V	27,0
14	E.R.	17	M	9,4	46	D.	20	M	18,8
15	E.E.B.	31	M	22,1	47	D.	19	V	17,1
16	V.G.C.	26	V	14,6	48	D.	28	V	15,6
17	O.B.M.	31	V	16,8	49	D.	45	M	21,6
18	A.	17	M	7,1	50	D.	38	V	11,9
19	R.L.	17	M	22,2	51	D.	25	V	14,1
20	A.B.	20	M	20,7	52	D.	21	V	18,8
21	T.G.F.	51	M	14,7	53	D.	23	V	18,2
22	A.S.	17	M	11,2	54	D.	22	V	20,5
23	M.P.P.	28	V	14,1	55	D.	22	V	27,6
24	A.J.A.	26	V	17,6	56	D.	28	V	14,8
25	C.S.M.	17	M	12,4	57	D.	24	V	12,7
26	T.M.	60	V	18,0	58	D.	21	V	10,1
27	D.M.	38	V	15,3	59	D.	21	V	15,4
28	M.M.	36	V	15,9	60	D.	18	V	18,5
29	J.P.H.	7	M	5,7	61	D.	20	V	17,9
30	D.H.F.	49	M	11,2	62	D.	20	V	25,3
31	MG.H.D.	9	M	14,9	63	D.	41	M	4,4
32	D.M.L.	10	V	9,0	64	D.	26	V	3,8

Continuación TABLA VI-B-1CORTISOL BASAL EN 83 INDIVIDUOS NORMALES

<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>µg/100 ml</u>
65	D.	47	V	10,2
66	D.	21	V	10,2
67	G.L.P.	35	V	13,5
68	D.F.R.	35	M	12,4
69	T.	38	V	9,8
70	D.F.M.	30	M	10,6
71	I.S.C.	20	M	24,4
72	I.C.M.	23	M	23,8
73	A.M.T.	20	M	12,3
74	M.J.R.	35	M	9,5
75	S.A.R.	47	M	14,1
76	M.O.	43	M	15,8
77	R.S.	21	V	19,8
78	M.M.	33	M	22,6
79	M.P.F.R.	30	M	21,2
80	J.V.C.	18	M	16,8
81	C.S.T.	43	M	11,6
82	R.M.C.D.	40	M	11,1
83	M.G.G.B.	35	M	16,0

TABLA VI-B-2
=====

CORTISOL BASAL EN 83 NORMALES SEGUN SEXO Y EDAD

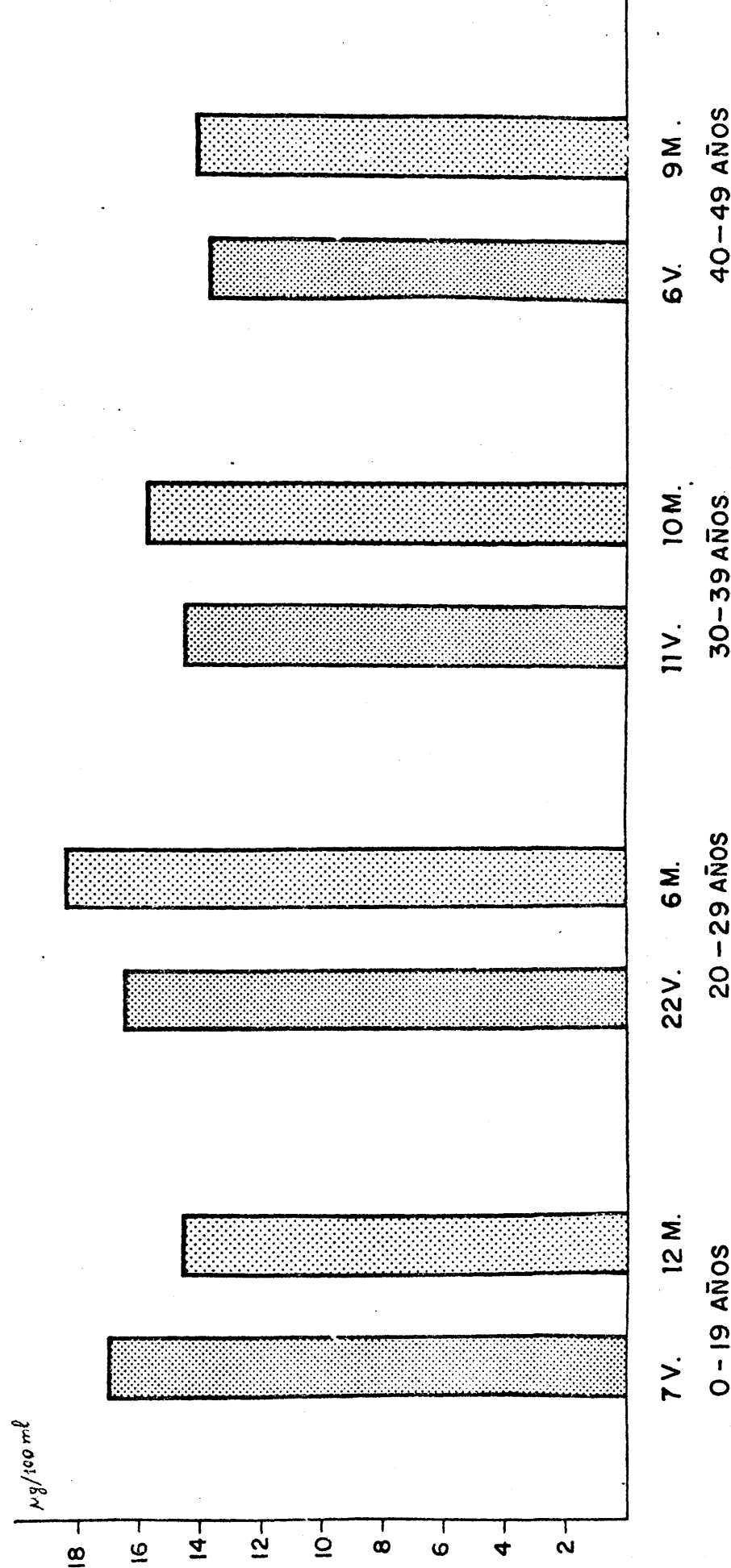
	<u>Edad</u>	<u>Nº</u>	<u>Media</u>	<u>Desv.</u> <u>Stand.</u>	<u>E.M.</u>	<u>t</u>	<u>p</u>
<u>VARONES</u>	0-19	77	17,0	6,5	2,46	-	-
	20-29	22	16,5	-	-	-	-
	30-39	11	14,5	-	-	-	-
	40-60	6	13,7	3,5	1,43	1,16	N.S.
<u>MUJERES</u>	0-19	12	14,6	-	-	-	-
	20-29	6	18,4	5,2	2,13	-	-
	30-39	10	15,8	-	-	-	-
	40-60	9	14,2	5,5	1,83	1,50	N.S.

GRAFICA VI-B-1

CORTISOL BASAL EN 83 NORMALES SEGUN SEXO Y EDAD .

46 VARONES (V)

37 MUJERES (M)



RITMO CIRCADIANO DEL CORTISOL PLASMATICO EN 24 SUJETOS NORMALES

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Caída</u>
1	34	M	12,5	0,5	96,0
2	51	M	22,4	9,7	56,6
3	17	M	9,4	3,9	58,5
4	31	M	22,1	5,9	73,3
5	26	V	14,6	8,6	41,0
6	31	V	16,8	6,7	60,1
7	17	M	7,1	0,8	88,7
8	17	M	22,2	9,2	58,5
9	51	M	14,7	6,2	57,8
10	17	M	11,2	5,1	54,4
11	17	M	12,4	0,7	94,4
12	10	V	9,0	0,6	93,3
13	37	V	7,2	3,4	52,7
14	32	V	11,0	0,8	92,7
15	27	M	14,3	0,7	95,1
16	44	V	16,7	8,3	50,2
17	28	V	23,5	10,1	57,0
18	35	M	12,4	0,5	95,9
19	23	M	23,8	0,8	96,6
20	47	M	14,1	6,5	53,9
21	21	V	19,8	5,7	71,2
22	30	M	21,2	4,5	82,3
23	18	M	16,8	4,2	75,0
24	35	M	16,0	4,7	70,4

- : - : - : - : - : - : - : - : - : -

En los casos que las determinaciones se realizaran también a las 4 y 5 horas, se observaba un retorno a los valores basales.

Los resultados individuales en 17 sujetos normales han sido recogidos en la tabla VI-B-4.

La tolerancia a la inyección i.v. directa del ACTH sintético ha sido excelente, sin que en ningún caso se presentara reacción o molestia de ninguna clase.

Estímulo con 25 U.I. de ACTH en infusión gota a gota durante 8 horas.

En 5 sujetos normales se ha realizado la determinación del cortisol plasmático al final de 2 infusiones de 25 U.I. de ACTH gota a gota en días consecutivos obteniendo los resultados figurados en la tabla VI-B-5.

Como se puede observar, el cortisol plasmático al final del goteo de ACTH varía de 35 a 80 $\mu\text{g}/100\text{ ml.}$, siendo mayor el resultado al final del 2º ACTH, aunque individualmente no ocurra siempre así, como en el caso nº 1.

Supresión rápida con lmg. de Dexametasona nocturna.

Esta prueba se ha realizado en 21 normales alcanzando una media de 2,7 μg con valores extremos de 0,5 y 6,4 μg .

Los valores individuales figuran en la tabla VI-B-6.

Prueba de Reserva hipofisaria con inyección i.m. de 10 U. de Lisina-8-Vasopresina.

Esta prueba se ha efectuado en 14 sujetos normales; en 12 de ellos por la mañana, y en 11 por la tarde.

La respuesta ha sido mayor en las pruebas realizadas por la tarde, pues ha habido un aumento de 13,9 μg ($\pm 4,9$) equivalente a 245,2% del

TABLA VI-B-4

ESTIMULO CON 25 U.I. DE ACTH SINTETICO EN INY. I.V. DIRECTA

(NORMALES)

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basal</u>	<u>1/2 hora</u>	<u>1 hora</u>	<u>2 horas</u>	<u>3 horas</u>	<u>4 horas</u>	<u>5 horas</u>
1	31	M	9,7	24,5	36,6	-	34,1	21,1	-
2	17	M	12,4	21,8	-	28,9	-	-	05,1
3	37	V	7,2	21,3	-	39,3	-	-	20,4
4	38	V	9,8	23,1	-	34,1	-	-	12,8
5	30	M	10,6	-	30,6	-	-	-	-
6	20	M	24,4	34,8	-	40,6	-	-	-
7	23	M	23,8	35,3	36,1	38,0	42,5	29,5	14,5
8	30	M	15,0	26,2	-	37,2	-	-	22,6
9	35	M	9,5	35,7	-	52,3	-	-	-
10	47	M	14,1	22,8	-	38,0	-	-	-
11	43	M	15,8	18,4	-	31,7	-	-	-
12	21	V	19,8	20,5	30,1	22,8	21,6	13,2	9,0
13	33	M	22,6	25,5	-	38,0	-	-	-
14	30	M	21,2	30,4	-	45,4	-	-	-
15	18	M	16,8	27,4	-	37,8	-	-	-
16	40	M	11,1	20,3	-	30,8	-	-	-
17	35	M	16,0	32,7	-	44,6	-	-	-
			<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
<u>Media.</u>			15,3	26,3	33,3	37,3	32,7	21,3	14,1

TABLA VI-B-5

NORMALES: INFUSION DE 25 U.I. DE ACTH DURANTE 8 HORAS

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basales</u>		<u>ACTH</u>	
			<u>1º</u>	<u>2º</u>	<u>1º</u>	<u>2º</u>
1	28	V	21,1	23,5	80,4	68,7
2	37	V	5,9	7,2	49,7	47,9
3	32	V	13,5	8,6	35,8	46,8
4	44	V	15,3	18,1	-	54,7
5	35	M	12,1	12,8	58,5	74,3
<u>Media.....</u>			13,5	14,0	54,8	58,5

TABLA VI - B - 6

=====

RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO A LA SUPRESION NOCTURNA

CON 1 mg DE DEXAMETASONA

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Cortisol µg/100 ml.</u>
1	17	M	0,6
2	27	M	0,5
3	43	M	4,0
4	32	M	3,1
5	22	M	5,0
6	40	V	2,5
7	36	M	2,9
8	18	M	1,2
9	72	M	4,2
10	37	M	2,4
11	30	M	3,0
12	36	M	1,9
13	50	V	0,6
14	51	V	1,2
15	26	V	6,4
16	45	M	4,2
17	29	M	2,1
18	36	M	2,1
19	20	V	5,9
20	29	V	2,3
21	32	V	1,2
<u>Media.</u>			<u>2,7</u>

TABLA VI-B-7

ESTIMULO CON L-8-VASOPRESINA EN INY. I.M. EN 12 NORMALES

Nº	Edad	Sexo	M A Ñ A N A				T A R D E			
			9 H.	10 H.	Aumento		Basal	L-Vasop.	Aumento	
			Basal	L-Vasop.	Absol.	%Basal			Absol.	%Basal
1	35	V	13,5	20,0	6,5	48,1	-	-	-	-
2	32	V	7,4	7,4	0	0	-	-	-	-
3	23	M	-	-	-	-	14,6	27,4	12,8	87,7
4	10	M	-	-	-	-	10,7	32,1	21,4	200,0
5	43	M	11,6	25,0	13,4	115,5	-	-	-	-
6	22	M	17,1	28,5	11,4	66,7	14,2	35,0	20,8	146,5
7	18	M	12,1	22,5	10,4	85,9	12,1	20,7	8,6	71,0
8	19	M	4,8	22,8	18,0	375,0	5,4	13,8	8,4	155,5
9	28	V	19,3	22,5	3,2	16,5	5,0	14,3	9,3	186,0
10	28	V	11,1	20,3	9,2	82,8	3,0	12,3	9,3	310,0
11	18	M	13,4	28,0	14,6	108,9	9,1	21,3	12,2	134,0
12	20	M	22,2	35,8	13,6	61,2	6,1	20,9	14,8	242,6
13	25	V	18,0	18,0	0,0	0,0	3,0	19,2	16,2	540,0
14	31	V	17,1	20,1	3,0	17,5	6,1	25,3	19,2	314,7
<u>Media.</u>			13,9	22,6	8,6	81,5	8,1	22,0	13,9	245,2

valor basal, mientras que por la mañana el aumento era de $8,6 \mu\text{g}$ -
($\pm 6,01$) equivalente al $81,5\%$ del valor inicial.

Además, en 4 casos (nº 2, 9, 13 y 14) la respuesta por la mañana -
fué muy pobre o nula, mientras que efectuada la prueba por la tarde hu-
bo una respuesta muy evidente (en el nº 2 no se realizó la prueba).

Individualmente los resultados han sido expresados en la tabla VI-B-
7.

2. ENFERMEDAD DE ADDISON.

Se han estudiado 22 pacientes con la enfermedad de Addison, esto es
con una insuficiencia suprarrenal primaria, sin hacer diferencia en cuan-
to a la etiología (tuberculosa, idiopática, etc.).

El diagnóstico estaba fundamentado en la historia clínica, explora-
ción, hallazgos analíticos, radiológicos y en la falta de respuesta de
los 17-OHCS urinarios a la infusión durante 8 horas de 25 U. de ACTH.

En el caso nº 1 tenía un síndrome de Schmidt, hipotiroidismo e hipo-
función suprarrenal primarios. Las determinaciones aquí expuestas se re-
fieren al periodo en que su función tiroidea estaba compensada.

La determinación del cortisol basal se ha realizado en 22 pacientes,
hallando unos valores entre cero y $10,0 \mu\text{g}/100 \text{ ml.}$, con una media de $4,7$
 $\pm 3,6 \mu\text{g}/100 \text{ ml.}$ de plasma.

Los valores nocturnos se verificaron en 15 de ellos, encontrando en
todos una ausencia del ritmo circadiano por falta de caída nocturna del
cortisol, indicando que el resto suprarrenal todavía funcionando está tr
bajando al máximo y de forma continua y permanente bajo el estímulo del
ACTH hipofisario endógeno. Incluso en algunos casos la concentración plas
mática de cortisol en la noche era ligeramente superior a la basal como
se refleja en las medias (basal $4,7 \mu\text{g}$ y noche $5,3 \mu\text{g}$) aunque sin diferen-
cia significativa.

Solo un caso (nº 2) muestra una cierta caída nocturna (basal 4,5 µg y noche 0,3 µg) que por la escasa concentración del cortisol basal es - más teórica que real, por lo que carece de valor.

En 21 addisonianos se ha realizado prueba de estimulación con ACTH sintético en inyección i.v. directa utilizando el tetracosapéptido p 1-24 corticotrofina en 19 de ellos y el pentacosapéptido en 2.

Se ha comprobado una falta de respuesta del cortisol al estímulo con ACTH. Solo en algunos casos (nº 3, 4, 9) había un ligero ascenso de la - concentración plasmática del cortisol, que nunca ha sobrepasado los 15 µg 100 ml. de plasma. Corresponden a individuos con basales normales que estarían en una situación intermedia entre la insuficiencia suprarrenal primaria total y la parcial.

En los 7 casos en que también se realizó la determinación a las 5 horas despues del estímulo, tampoco se comprobó aumento del cortisol.

Los valores individuales basales, nocturnos y de estímulo al ACTH, han sido expresados en la tabla VI-B-8.

Si el sujeto no había sido tratado con corticoides, estaba en las condiciones ideales para efectuar las pruebas. Si ya realizaba tratamiento sustitutivo se le suprimía la medicación una semana antes. En caso de no tolerar el paciente la suspensión del tratamiento, como el único corticoide que interfiere con la reacción de fluorescencia del método es la hidrocortisona, se le cambiaba a un análogo sintético generalmente prednisona o dexametasona cuya administración se retrasaba unas horas el día de la prueba hasta que se finalizaban las extracciones de sangre. En - estos casos las concentraciones del cortisol basal y nocturno tenían menos valor que la falta de respuesta al ACTH i.v.

En algunos de los casos expuestos en la tabla figura la concentración plasmática del cortisol como cero, cuando en realidad sería más correcto hablar de niveles indetectables de cortisol en plasma, puesto que es dificil imaginar se pueda vivir sin una mínima cantidad de cortisol. Naturalmente esto se refiere a los addisonianos que hasta el momento de realizar las determinaciones carecían de tratamiento sustitutivo, puesto que si to

ADDISON: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH SINTETICO I.V.

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Ritmo</u>		<u>Estimulo con ACTH sintético</u>			
			<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Basal</u>	<u>1/2 hora</u>	<u>2 horas</u>	<u>5 horas.</u>
1	29	V	0	0	0	0,4	0	0
2	46	V	4,5	0,3	4,5	4,2	3,8	5,1
3	56	V	8,7	8,7	8,7	13,6	9,4	5,2
4	46	V	8,9	11,8	8,9	13,5	14,3	16,0
5	36	V	0	-	0	0	3,1	3,1
6	31	V	2,2	0	-	-	-	-
7	37	V	1,8	-	1,8	2,4	4,4	2,4
8	41	M	10,0	-	10,0	11,3	10,0	10,0
9	42	V	9,2	-	9,2	13,3	15,2	-
10	35	M	0	-	0	0	0	-
11	35	V	10,0	11,4	10,0	-	13,6	-
12	66	V	6,9	5,0	6,9	5,0	6,3	-
13	33	V	7,8	8,4	7,8	9,6	9,6	-
14	55	V	4,5	5,7	4,5	8,0	6,8	-
15	42	M	1,1	2,8	1,1	3,3	1,6	-
16	55	M	1,0	1,6	1,0	1,0	1,0	-
17	30	V	5,2	-	5,2	4,0	4,6	-
18	49	V	0,5	0,5	0,5	3,9	3,3	-
19	35	M	8,4	10,8	8,4	9,0	8,4	-
20	28	V	2,3	-	2,3	3,5	2,3	-
21	36	V	5,1	6,3	5,1	4,6	5,7	-
22	36	V	6,1	6,1	6,1	4,9	6,7	-
<u>Media.</u>			<u>4,7</u>	<u>5,3</u>	<u>4,8</u>	<u>5,8</u>	<u>6,2</u>	<u>4,7</u>

mabasteroides hasta el mismo día de la prueba, la cifra cero no significaría más que un correcto tratamiento con abolición total de la hipersecreción de ACTH secundaria a la hipofunción suprarrenal.

En el grupo de los 21 addisonianos con prueba de estimulación con ACTH i.v. directo, está incluida una mujer (nº 19) suprarrenalectomizada bilateral por Cushing debido a una hiperplasia, y que 4 años después de la operación estaba pigmentada con astenia, hipotensión, etc., aunque hacía vida relativamente activa sin necesidad de medicación sustitutiva. Por la determinación de los 17-OHCS en orina de 24 horas, se comprobó poseía cierta secreción en los restos suprarrenales. Tenía un adenoma hipofisario que destruía parcialmente el suelo de la silla turca; no producía compromiso visual.

No se han incluido en este apartado otras 6 personas con suprarrenalectomía total por hiperfunción suprarrenal y cuyas cifras basales de cortisol, estimadas entre 1 y 8 meses después de la operación fueron las expresadas en la tabla VI-B-9.

En los tres casos (nº 2, 3 y 6) en que se detectó una cierta concentración de cortisol en plasma, es posible que persistiera algún resto suprarrenal o que hubiera una cierta secreción de origen ectópico. La evolución posterior, y un estudio más profundo, caso de que esas cifras persistan, podrán aclararnos ese punto. Esa suposición no es infundada puesto que es relativamente frecuente persistan algunos restos después de la suprarrenalectomía como en el caso nº 19 antes mencionado, y en otro que por mantener un ritmo circadiano intacto y una cierta respuesta al ACTH está incluido en el apartado de "Reserva Suprarrenal Disminuida".

Es interesante señalar que en 5 pacientes diagnosticados de enfermedad de Addison se efectuó infusión de 25 U.I. mediante goteo i.v. de 8 horas, durante 2 días consecutivos sin que al final de las mismas se pudiera apreciar un aumento significativo del cortisol en plasma; esto es, persistía la falta de respuesta a pesar del estímulo prolongado y repetido de ACTH. (tabla VI-B-10).

CORTISOL BASAL EN 6 SUJETOS SUPRARRENALECTOMIZADOS

<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Sexo</u>	<u>Edad</u>	<u>Diagnóstico</u>		<u>Cortisol µg/100 ml.</u>
				<u>Clínico</u>	<u>Histológico</u>	
1	M.G.G.D	M	39	Cushing	Hiperplasia	0,0
2	E.E.B.	M	29	Cushing - Esquizofrenia	Hiperplasia nodular	8,2
3	D.P.R.	M	36	Androgenismo Esquizofrenia	Hiperplasia nodular	4,9
4	R.L.F.	M	44	Cushing	Hiperplasia nodular	0,0
5	M.L.D.	V	16	Cushing	Hiperplasia	0,0
6	P.D.M.	M	32	Cushing-Diabetes lipoatrófica	Hiperplasia microadenomatosa	5,2

-:-:-:-:-

TABLA VI-B-10

ADDISON: INFUSION DE ACTH 25 U.I. DURANTE 8 H.

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basal</u>	<u>Final goteo ACTH</u>	
				<u>1er. día</u>	<u>2º día</u>
1	53	V	0	0	0
2	29	V	0	0	0
3	36	V	0	0,7	0
4	31	V	2,3	3,8	6,3
5	37	V	1,8	4,0	3,2
<u>Media.....</u>			<u>0,8</u>	<u>1,7</u>	<u>1,9 µg/100 ml.</u>

-:-:-:-:-

3. RESERVA ADRENAL DISMINUIDA O INSUFICIENCIA ADRENAL PRIMARIA PARCIAL.

En condiciones basales la concentración del cortisol plasmático en los 8 pacientes estudiados, cae dentro de los límites normales, variando de 6,9 μg a 20,1 $\mu\text{g}/100$ ml de plasma. Las cifras nocturnas varían de cero a 4,0 μg con caídas entre el 58,4 y el 100%, o sea con un ritmo circadiano conservado como expresión de un eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales capaz y suficiente en condiciones normales.

En cuanto a la conducta frente a la inyección i.v. de ACTH sintético, siempre había cierta respuesta, de forma que a las 2 horas el cortisol subía a 19-31 μg con una media de 24,5 μg , o sea casi el doble de la basal, pero sin alcanzar los valores del grupo de los normales.

Individualmente se comportaron del modo expresado en la tabla VI-B-11.

Como puede observarse, 4 de ellos (nº 3, 4, 5 y 8) corresponden a antiguos addisonianos que convenientemente tratados con la medicación sustitutiva, además de hidrazidas durante años, estaban mejorados clínicamente y las pruebas hormonales lo corroboraban; incluso los casos 5 y 8 estaban aparentemente bien sin necesidad de corticoides.

Los casos 2 y 6 tenían manifestaciones clínicas de la enfermedad de Addison (astenia, coloración morena, hipotensión) pero las pruebas realizadas no indicaban una auténtica hipofunción.

El caso nº 1, era una mujer suprarrenalectomizada bilateral por Cushing hacía 2 años, pero que hacía una vida normal y solo aquejaba cierta astenia, sin estar pigmentada. Evidentemente tenía unos restos suprarrenales que suplían la función de las glándulas extirpadas en condiciones basales, aunque su reserva funcional ante el estímulo con ACTH fuera escasa.

Por fin, el nº 7, se trataba de una mujer joven de 23 años, operada hacía 8 meses de un adenoma suprarrenal izquierdo, y que conserva la suprarrenal derecha. No necesitaba medicación sustitutiva para realizar su vida normal. Ahora bien, el hecho de la escasa respuesta al ACTH i.v., indica cierta insuficiencia ante el estímulo, como si dicha suprarrenal

RESERVA ADRENAL DISMINUIDA: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Caida%</u>	<u>Basal</u>	<u>1/2hora</u>	<u>2horas</u>	<u>Diagnóstico</u>
1	33	M	16	4	75,0	16	17,8	20,1	Restos suprarrenales después de suprarrenalectomía bilateral.
2	33	V	20,1	2	90,0	20,1	25,9	28,5	Addison latente.
3	53	M	18,0	2,9	83,8	18,0	20,9	25,5	Addison después de años de tratamient
4	40	V	17,7	-	-	17,7	23,8	31,1	Addison después de años de tratamient
5	50	V	7,1	0	100	7,1	12,5	19,0	Addison después de años de tratamient
6	50	V	9,5	2,7	71,5	9,5	22,6	23,9	Addison latente. Pleuritis tb. en regresión.
7	23	M	11,6	3,2	72,5	11,6	18,1	23,3	Solo tiene una suprarrenal (izq.)
8	34	V	6,9	2,9	58,4	6,9	15,6	24,4	Addison después de años de tratamient
<u>Media.</u>			<u>13,4</u>	<u>2,5</u>	<u>78,7</u>	<u>13,4</u>	<u>19,6</u>	<u>24,5</u>	
			=====	=====	=====	=====	=====	=====	

restante, despues de haber estado atrófica durante la existencia del adenoma contralateral, no se hubiera recuperado aun totalmente.

4. MELANOSIS NO ADDISONIANAS.

Los datos individuales del grupo de 6 personas que constituyen - este apartado estan contenidos en la tabla VI-B-12.

En conjunto los resultados son semejantes a los sujetos normales, y perfectamente distinguibles del grupo de addisonianos y de los sujetos con reserva suprarrenal disminuida.

Muy demostrativo es el caso nº 5. Clínicamente parecía el típico Addison. Se llegó a dudar de los datos arriba expuestos. Días despues se midieron los 17-hidroxycorticoides en orina de 24 horas, basales y después de estímulo de ACTH en goteo durante 8 horas; los resultados iban también de acuerdo con una función suprarrenal intacta. Se continuó el estudio del enfermo ahondando en la historia clínica, y en el examen minucioso de las faneras y finalmente se pudo diagnosticar una intoxicación crónica por arsénico (Rodriguez Miñón, Arrieta y Herrera, 1970).

Al caso nº 2, quizá se le pudiera objetar una escasa respuesta al ACTH, especialmente a las 2 horas de la inyección. Teniendo en cuenta la basal perfectamente normal 19,1 µg, la subida a 29,5 µg a la 1/2 h. y su raza gitana, bien se puede estar seguro que no era una enfermedad de Addison. Es muy probable que parte del ACTH sintético se perdiera al intentar ponerlo en vena. Una repetición de la prueba habría confirmado tal suposición, como en algunos otros pacientes nos ha sucedido, pero en este caso concreto no se volvió a realizar el estímulo con ACTH.

TABLA VI-B-12

MELANOSIS NO ADDISONIANAS: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO
CON ACTH I.V. DIRECTO

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Ritmo circadiano</u>			<u>Estímulo con ACTH I.V.</u>		
			<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Caída</u>	<u>Basal</u>	<u>1/2 h.</u>	<u>2 h.</u>
1	30	M	7,7	3,9	49,3	7,7	33,9	45,6
2	49	V	19,1	-	-	19,1	29,5	20,4
3	33	V	21,6	1,3	94,0	21,6	25,6	37,8
4	30	M	13,5	7,0	47,8	13,5	34,1	44,7
5	44	V	7,9	1,7	78,5	7,9	23,8	38,0
6	44	V	14,2	7,5	47,1	14,2	25,0	30,9
<u>Media.</u>			<u>14,0</u>	<u>4,3</u>	<u>63,3</u>	<u>14,0</u>	<u>28,6</u>	<u>36,2</u>
			*****	*****	*****	*****	*****	*****

5. INSUFICIENCIA SUPRARRENAL DE ORIGEN HIPOFISARIO.

Los pacientes de este apartado tenían todos una insuficiencia suprarrenal secundaria a la deficiencia de ACTH hipofisario, aunque de etiología diferente.

En unos casos (nº 4, 5, 6, 8) era debido a un tratamiento con corticoides a causa de un asma, reumatismo, etc. Otros eran acromegálicos sometidos a una exéresis quirúrgica del tumor hipofisario (nº 2, 7, 9). En un caso (nº 3), la insuficiencia hipofisaria estaba causada por la radioterapia hipofisaria administrada. Los restantes (nº 1 y 10) tenían una insuficiencia hipofisaria espontánea, postpartum el nº 1 y de etiología desconocida el nº 2.

Las basales del cortisol plasmático estaban muy disminuídas, con una media de 2,8 μg siendo el valor máximo de 5,5 μg . La media de las concentraciones nocturnas del cortisol, era de 1,4 μg . En conjunto parece existir una caída nocturna del 50%, aunque a esos niveles bajos es difícil precisar si realmente existe caída o no.

Ante el estímulo con el ACTH sintético en inyección i.v. directa, se manifestaba una clara respuesta, ya a la media hora, pero era más evidente a las 2 horas, en cuyo momento la concentración plasmática media de los 9 casos estudiados era de 16,3 μg con una variación de 10 a 27 μg si exceptuamos el caso nº 1 que solo subía a 4,5 μg .

Los valores individuales obtenidos han sido expresados en la tabla VI-B-13.

Teniendo en cuenta los datos expuestos es quizá probable que el caso nº 1 no fuera una hipofunción suprarrenal hipofisaria sino primaria, ya que es la única excepción que no muestra elevación del cortisol plasmático después del estímulo con ACTH. Naturalmente iría en contra de la conclusión diagnóstica a la que se llegó con la enferma, y solo se podrá comprobar en revisiones posteriores.

En cinco de los nueve casos expuestos, el ACTH utilizado fué la β 1-24 corticotrofina y en los 4 restantes se empleó el pentacosapéptido. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos como

ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

Nº	Edad	Sexo	Ritmo		Estimulo con ACTH I.V.			D I A G N O S T I C O
			Basal	Noche	Basal	1/2hora	2 horas	
1	37	M	1,1	0	1,1	1,1	4,5	Insuficiencia hipofisaria.
2	15	V	2,9	0	-	-	-	Gigantismo operado
3	45	V	5,5	3,1	5,5	19,0	27,2	Acromeg. ttda. con radioterapia
4	47	M	0	0	0	8,2	14,1	Ttº.con corticoides.
5	50	V	3,7	1,8	3,7	5,6	10,0	Ttº.con corticoides.
6	35	V	1,6	1,0	1,6	5,4	10,9	Ttº.con corticoides.
7	28	M	1,6	0	1,6	15,4	27,3	Acromegalia operada.
8	30	M	2,3	-	2,3	2,3	22,6	Ttº. con corticoides.
9	50	V	5,1	2,8	5,1	12,6	16,0	Adenoma hipof.operado
10	47	V	4,6	4,0	4,6	9,3	13,9	Insuficiencia hipofisaria.
Media. . . .			2,8	1,4	2,8	8,8	16,3	

TABLA VI-B-14

INSUF. ADRENAL HIPOFISARIA: COMPARACION DEL ESTIMULO CON β_1 -24 CORTICOTROFINA
Y EL PENTACOSAPEPTIDO

Cortisol a las 2h. de la iny. de ACTH		Incremento de μg (sobre la basal)	
β_1 -24 Corticotr.	Pentacosap.	β_1 -24 Corticotr.	Pentacosap.
Nº			
1	4,5	-	3,4
3	27,2	-	21,7
4	-	14,1	-
5	-	10,0	-
6	10,9	-	9,3
7	-	27,3	-
8	22,6	-	20,3
9	-	16,0	-
10	13,9	-	9,3
Media. 15,8	16,8	12,8	14,2 μg

INSUFICIENCIA ADRENAL HIPOFISARIA: GOTEIO I.V. DE 8 HORAS CON 25 U.I. DE ACTH

Nº	Edad	Sexo	Basal	Infusión de ACTH.		Diagnostico
				1er día	2º día	
1	6	V	3,9	15,5	22,6	Tratamiento con corticoides
2	36	M	1,9	23,0	-	Tratamiento con corticoides
3	15	V	2,9	30,8	41,2	Gigantismo operado
4	36	V	3,1	32,3	37,9	Hiperfunción hipofisaria
5	50	V	3,7	-	25,6	Tratamiento con corticoides
Media. . . .			3,1	25,4	31,8	
			-----	-----	-----	

==:==:==:==:==:==:

TABLA VI-B-16
=====

INSUFICIENCIA ADRENAL HIPOFISARIA: ESTIMULO CON L-8-VASOPRESINA 10 U.I.

Nº	Edad	Sexo	Mañana		Tarde		Diagnóstico
			Basal	L-Vasopr.	Basal	L-Vasopr.	
1	37	M	4,5	6,8	-	-	Insuficiencia hipofisaria
2	35	V	0	0,5	-	-	Ttº.con corticoides.
3	28	M	5,7	4,5	1,7	4,0	Acromegalia operada
4	40	M	0	1,7	-	-	Insuficiencia Hipofisaria
Media. . .			2,5	3,4			
			-----	-----			

==:==:==:==:==:==:

se puede apreciar en la tabla VI-B-14.

En dos de los pacientes mencionados líneas atrás, y en otros tres más se efectuaron infusiones de 25 U. de ACTH durante 8 horas, en días consecutivos extrayendo sangre para cortisol en plasma, al final de las mismas. El resultado fué un aumento del cortisol mayor aun el segundo día y que prácticamente era el doble que el obtenido a las 2 horas de la inyección intravenosa directa del ACTH sintético. (tabla VI-B-15).

Además de estas pruebas, en 4 pacientes también se realizó un estímulo con 10 U. de Lisina-8-Vasopresina en inyección i.m., no observándose aumento valorable del cortisol en plasma una hora después de la inyección, tal como era de presumir y como se puede apreciar en la tabla VI-B-16.

En uno de ellos (nº 3) el estímulo con Lisina-8-Vasopresina también se efectuó a las 17,00 horas, sin que tampoco hubiera una respuesta apreciable.

6. HIPERFUNCIONES SUPRARRENALES.

Cortisol basal, Caída nocturna y estímulo con ACTH en inyección i.v. directa.

Se han estudiado 13 casos de hiperfunción suprarrenal de diferente etiología.

El cortisol basal a las 9 de la mañana oscilaba entre 13,8 μg y 46 μg con una media de 25,1 μg .

A las 11 de la noche siempre la concentración plasmática del cortisol era superior a 11 μg si exceptuamos un caso (nº 2) que mantenía intacto el ritmo circadiano del cortisol, y que más adelante se comentará.

En general, la caída nocturna del cortisol expresada en tanto por ciento respecto de la basal ha sido inferior al 32%, a excepción del caso antes mencionado (nº 2) y otro (nº 3) con caída nocturna del 61,5%, pero

HIPERFUNCION SUPRARRENAL: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

Nº	Edad	Sexo	Ritmo circadiano			Estímulo con ACTH			Diagnostico	
			Basal	Noche	Caída	Basal	1/2H:	2 H.	Clinico	Histológico
1	36	M	16,8	13,8	17,8	16,8	32,6	46,9	Androgenismo	Hiperplasia nodular.
2	16	M	13,8	0,3	97,8	13,8	32,1	57,4	Cushing?	No se operó
3	44	M	34,5	13,4	61,5	34,5	72,1	84,5	Cushing	HHiperpl.nodular
4	37	V	32,6	32,0	1,8	32,6	72,4	119,3	Cushing	Hiperpl.nodular bilateral.
5	28	M	25,0	20,3	18,8	25,0	47,7	49,6	Cushing	Hiperpl.nodular bilateral y adenoma izquierdo.
6	39	M	26,6	-	-	26,6	50,6	66,5	Cushing hipof.	No se operó.
7	25	M	25,5	17,4	31,8	25,5	69,7	108,1	Cushing	Hiperpl.nodular.
8	37	M	22,8	22,8	0,0	22,9	35,6	52,8	Cushing	Hiperplasia
9	60	V	46,9	46,9	0,0	46,9	62,6	60,2	Sindr.canceroso ¿suprarrenal? ¿ACTH ectópico?	Hiperplasia
10	35	M	16,4	11,3	31,1	18,6	47,6	93,0	Cushing	Hiperplasia
11	36	M	14,4	12,8	11,1	14,4	-	-	Cushing	Hiperplasia
12	30	M	29,1	26,3	9,6	29,1	-	-	Cushing	Cáncer suprarrenal operado
13	29	M	22,5	17,5	22,3	22,5	35,5	55,0	Androgenismo	Neoplasia suprarrenal derecha.
<u>Media.</u>			25,1	19,5	25,3	25,3	50,8	72,1		

con cortisol basal y nocturno netamente elevados (34,5 y 13,4 μg respectivamente).

En cuanto al estímulo con ACTH sintético la respuesta media ha sido de 50,8 μg a la 1/2 hora y de 72,1 μg a las 2 horas. En cuatro casos se realizó otra valoración del cortisol plasmático a las 5 horas de la inyección de ACTH, siendo la media 29,6 μg , o sea que retornaba al valor inicial basal.

La tabla VI-B-17 expresa los resultados individuales y la VI-B-18 los resultados agrupados según la etiología de la hiperfunción suprarrenal.

El primer grupo etiológico esta constituido por 3 casos de Cushing que correspondían a hiperplasias suprarrenales puras, al contrario que los 4 siguientes cuyo estudio anatomopatológico era diferente pues no sólo era una hiperplasia sino que había nódulos de aspecto adenomatoso sin llegar a diferenciarse por completo. Concretamente el nº 4, además de la hiperplasia nodular adenomatosa bilateral, presentaba un adenoma típico encapsulado en el lado izquierdo; respondía excesivamente al estímulo con ACTH, tanto en sangre (cortisol plasmático), como en orina (17 OHCS) a semejanza de las hiperplasias, mientras que ni en sangre ni en orina respondía a la supresión con Dexametasona, comportándose en este aspecto como los adenomas.

Aunque los grupos son pequeños parece apreciarse basales más altas en las hiperplasias nodulares. El ritmo es semejante, si no se considera el caso nº 3 que al lado de una basal elevada (34,5 μg) presenta un cortisol nocturno mucho menor (13,4 μg) con una caída del 61,5%.

También hay que hacer notar la escasa respuesta al ACTH de los pacientes nº 1 y 8, clínica e histológicamente bien diferentes.

En el grupo de no operados, los 3 pacientes considerados son diferentes entre sí. El nº 2 (C.M.C., mujer de 16 años) es un Cushing dudoso, con basal normal, ritmo conservado y respuesta ligeramente superior a lo nor-

RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO EN 13 CASOS
DE HIPERFUNCION SUPRARRENAL AGRUPADOS SEGUN SU ETIOLOGIA

Nº	Ritmo circadiano			Estímulo con ACTH			Diagnóstico	
	Basal	Noche	Caida	Basal	1/2 h.	2 H.	Clínico	Histológico
8	22,8	22,8	0,0	22,9	35,6	52,8	Cushing	Hiperplasia
10	16,4	11,3	31,1	18,6	47,6	93,0	Cushing	Hiperplasia
11	14,4	12,8	11,1	-	-	-	Cushing	Hiperplasia
Media	17,8	15,6	14,0	20,7	41,6	72,9		
1	16,8	13,8	17,8	16,8	32,6	46,9	Androgenismo	Hiperplasia nodular
3	34,5	13,4	61,5	34,5	72,1	84,5	Cushing	Hiperplasia nodular
4	32,6	32,0	1,8	32,6	72,4	119,3	Cushing	Hiperpl.nodular bilate- ral y adenoma izquierd
7	25,5	17,4	31,8	25,5	69,7	108,1	Cushing	Hiperplasia nodular.
Media	27,3	19,1	28,2	27,3	61,7	89,7		
2	13,8	0,3	97,8	13,8	31,1	57,4	Cushing?	No se operó
5	25,0	20,3	18,8	25,0	47,7	49,6	Cushing	No se operó
6	26,6	-	-	26,6	50,6	66,5	Cushing hipo fisario	No se operó
12	29,1	26,3	9,6	29,1	25,6	29,1	Cushing	Cáncer operado
13	22,5	17,5	22,3	22,5	35,5	55,0	Androgenismo	Cáncer
9	46,9	46,9	0,0	46,9	62,6	60,2	¿Cáncer suprarrenal? ¿Síndrome de ACTH ectópico?	

mal. Su clínica era de Cushing, y la respuesta de los 17-OHCS urinarios a la infusión de ACTH, también era excesiva. Estaba muy obesa, pero después de normalizar su peso el comportamiento bioquímico seguía siendo idéntico. Sin embargo no se consideró necesaria, de momento, la intervención quirúrgica, y está siendo sometida a revisiones periódicas.

La paciente nº 5 (A.F.M. de 28 años), tenía una alteración del ritmo muy evidente con una respuesta al ACTH en el límite superior de la normalidad. Clínicamente presentaba un síndrome de Cushing evidente, pero no se consideró oportuno operar en ese momento, por lo que desconocemos la anatomía patológica de las suprarrenales.

La paciente nº 6 (P.G.D., de 39 años) era un típico Cushing con gran balonamiento de la silla turca y efectación campimétrica. Se negó a operarse y es desconocida su evolución posterior. Se podría haber colocado en el grupo de las hiperplasias, pero es preferible no hacerlo por desconocer los resultados siguientes a la extirpación del tumor hipofisario.

La paciente nº 12, (A.A.M., de 30 años) tenía un cáncer suprarrenal operado, pero con metástasis generalizadas y aspecto de Cushing. El comportamiento ante el estímulo con ACTH no estaba reseñado en el cuadro primero de las hiperfunciones a causa de la falta de respuesta al mismo, que hubiera hecho bajar falsamente las medias.

La paciente nº 13 (J.A.B., de 29 años) clínicamente mostraba un síndrome de virilización desde hacía 2 años. No mantenía el ritmo circadiano y la respuesta al ACTH, aunque no era excesiva, no estaba ni mucho menos abolida, como en el caso anterior. Solo se extirpó la suprarrenal derecha que histológicamente correspondía a una neoplasia de escasa malignidad histológica. Bioquímicamente el tumor debía ser fundamentalmente androgénico, como lo reflejaban los 17-cetosteroides urinarios, muy elevados, mientras que los 17-OHCS en orina de 24 horas eran normales.

Por último, el paciente nº 9 (R.S., de 60 años), que muestra la basal más alta, con ausencia total del ritmo día-noche, y escasa respuesta al ACTH i.v., presentaba clínicamente un síndrome hipokaliémico con gran repercusión sobre el estado general que le llevó rápidamente a un fatal de

senlace. Desgraciadamente no se pudo realizar autopsia, quedando en el aire la incógnica de la etiología de su enfermedad que bien pudiera ser un síndrome de ACTH ectópico, aunque no se puede descartar tuviera una neoplasia primariamente suprarrenal.

Respuesta a la infusión gota a gota de 25 U. de ACTH durante 8 horas.

En 6 pacientes con hiperfunción de la corteza suprarrenal se efectuó infusión gota a gota de 25 U. de ACTH durante 8 horas en dos días consecutivos, determinando el cortisol plasmático previamente y al final de cada infusión.

Los resultados individuales y la media han sido expresados en la tabla VI-B-19.

El caso nº 4 no ha sido incluido al realizar las medias a causa de la falta de respuesta al ACTH de acuerdo con las características de los carcinomas suprarrenales. Tenía una basal de 19,1 μg dentro de los límites normales y no respondía al ACTH el primer día, aunque si lo hacía - parcialmente el segundo. Hay que tener en cuenta que en el momento de realizar la prueba no tenía clínica ni aspecto de Cushing, pues estaba operada recientemente, pero tenía metástasis pulmonares. Además el hecho de conservar intacta la suprarrenal izquierda puede explicar la respuesta del día segundo de la estimulación.

La respuesta mayor la alcanza el nº 6 (146, μg) que también tiene la basal más elevada (35,6 μg).

La respuesta menor corresponde a la paciente nº 5 (C.S.S., de 17 - años) que también muestra una basal totalmente dentro de la normalidad - (8 μg). En realidad el diagnóstico de Cushing era dudoso y por ello no se intervino quirúrgicamente estando sometida a observación.

Supresión rápida con 1 mg. de Dexametasona nocturna (Nugent).

Se ha practicado en 8 pacientes reseñados en la tabla VI-B-20.

HIPERFUNCION SUPRARRENAL: ESTIMULO CON ACTH EN PERFUSION I.V. DE 8 HORAS

Nº	Edad	Sexo	Cortisol en plasma			Diagnóstico	
			Basal	1º ACTH	2ºACTH	Clínico	Histológico
1	16	M	13,4	85,0	102,7	Cushing?	No se operó
2	37	M	16,8	86,9	91,1	Cushing	Hiperpl.nodular
3	36	M	14,4	60,6	71,0	Cushing	Hiperplasia
4	30	M	19,1	23,3	37,9	Aspecto normal	Cáncer operado que conserva suprarr.i
5	17	M	8,1	71,5	73,5	Cushing?	No se operó
6	44	M	35,6	146,7	138,5	Cushing	Hiperpl. nodular
<u>Media.....</u>			<u>17,6</u>	<u>90,1</u>	<u>95,3</u>		

=====

TABLA VI-B-20

=====

HIPERFUNCION SUPRARRENAL: SUPRESION RAPIDA CON 1mg. DE DEXAMETASONA NOCTURNO

Nº	Cortisol			D i a g n ó s t i c o
	Basal	Noche	Nugent	
1	19,1	21,9	15,8	Cáncer operado
2	32,6	32,0	37,3	Hiperplasia nodular bilateral; adenoma izquierdo
3	25,0	20,3	8,8	Cushing. No se operó
4	26,6	-	13,9	Cushing hipofisario
5	25,5	17,4	31,1	Hiperplasia nodular
6	16,4	11,3	13,1	Hiperplasia
7	29,1	26,3	36,7	Cáncer con metástasis
8	22,5	17,5	6,1	Neoplasia derecha de escasa malignidad histológica.

=====

TABLA VI-B-21

=====

ESTIMULO CON L-8-VASOPRESINA EN 3 CASOS DE HIPERFUNCION ADRENAL

Nº	Nombre	Edad	Sexo	M a ñ a n a		t a r d e		Diagnóstico
				Basal	L-Vasop.	Basal	L-Vasop.	
1	A.N.C.	25	M	25,9	43,3	18,8	48,2	Hiperplasia nodular
2	R.H.D.	17	M	-	-	25,0	26,7	Adenoma
3	A.A.M.	32	M	39,2	36,7	-	-	Carcinoma.

=====

Como se puede observar, en 6 ocasiones el cortisol plasmático - después de la administración de Dexametasona, la noche anterior, se - mantuvo por encima de 13 µg/100 ml. En el caso nº 3 descendió a 8,8 µg pero menos de lo habitual en un sujeto normal. Muy curiosa es la respuesta de la paciente nº 8, que con una neoplasia maligna responde a la supresión quedándose en 6,1 µg, en el límite de la normalidad; hay que resaltar el hecho de que el síndrome clínico que la caracterizaba era más del tipo de virilización que del Cushing, y analíticamente, - mientras las basales de 17-OHCS en orina eran de 12,6 y 9,9 mg, los - 17-cetosteroides alcanzaban cifras de 60,8 y 110,2 mg/24 h.

Los casos nº 1 y 7 son el mismo individuo pero en diferentes fase de evolución. En la primera ocasión estudiada (nº 1) había sido operada de carcinoma suprarrenal derecho, conservando la suprarrenal izquierda; clínicamente estaba asintomática y no necesitaba medicación sustitutiva, pero había metástasis pulmonares en la radiografía de tórax. Tenía basal normal (19,1 µg) con abolición del ritmo día-noche, y escasa supresión con la dexametasona. Dos años después, (nº 7), clínicamente había reaparecido el síndrome de Cushing, las metástasis habían aumentado y analíticamente las concentraciones de cortisol plasmático eran mayores, así como la ausencia de supresión.

En el caso nº 2, también había un cortisol elevado, 32,6 µg, con ausencia de supresión. Tenía una hiperplasia nodular bilateral y además un adenoma en la suprarrenal izquierda.

En conjunto los datos parecen mas relacionados con el momento de - la historia natural de la enfermedad que con la etiología del síndrome de hiperfunción suprarrenal, ya que dentro de la misma etiología hay pacientes con valores altos y menos elevados.

Estímulo con Lisina-8-Vasopresina.

Esta prueba se efectuó en 3 pacientes con hiperfunción suprarrenal de diferente etiología, observándose una falta de respuesta en el adeno

ma y carcinoma suprarrenales, y un aumento notable en la hiperplasia, más considerable aun en la prueba de la tarde. (Tabla VI-B-21).

La paciente de la hiperplasia fué sometida a una suprarrenalectomía en dos tiempos. Cuando se le había extirpado una suprarrenal y en el intervalo para la segunda lumbotomía, se repitió la prueba de L-Vasopresina sin apenas respuesta por la mañana (23,1 µg de basal y 26,2 µg tras la inyección de L-Vasopresina) mientras que por la tarde sí fué muy evidente (de 27,5 µg subió a 39,0 µg).

7. OBESIDAD.

Se ha realizado el estudio de la concentración basal del cortisol plasmático en 20 sujetos obesos, encontrando unos valores comprendidos entre 5,6 y 26,1 µg/100 ml., con una media de 14,7 µg (\pm 5,8).

Por la noche la media ha sido de 3,6 µg, y la caída nocturna del cortisol ha sido siempre muy evidente (a excepción de un solo caso, el nº 17) con una media de 69,5%.

Los datos individuales constan en la tabla VI-B-22.

La paciente nº 17, antes mencionado, carecía de caída nocturna, y sorprendentemente la basal no era alta. Clínicamente, y después de efectuar una serie de pruebas, se pensó en la posibilidad de una hiperfunción suprarrenal incipiente. Quizá hubiera sido más correcto no incluir la en el grupo de los obesos.

El resto de los pacientes eran obesos sin ninguna otra enfermedad ni alteración endocrina.

Estímulo con 25 U. de ACTH sintético en inyección i.v. directa.

Se ha verificado en 7 obesos, obteniendo una respuesta del doble de la basal ya a la 1/2 hora y que se triplicaba a las 2 horas, como se puede observar en la tabla VI-B-23.

CORTISOL BASAL, NOCHE Y CAIDA NOCTURNA EN 20 PACIENTES OBESOS

<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Cortisol ug/100ml</u>		
				<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Caída %</u>
1	A.G.R.	43	M	14,3	-	-
2	V.S.F.	40	M	18,9	6,4	66,1
3	C.C.C.	55	M	16,2	1,2	92,5
4	A.G.O.	21	M	23,8	-	-
5	C.V.P.	35	M	19,1	-	-
6	M.G.S.	48	M	8,2	3,4	58,5
7	P.P.S.	31	M	11,3	1,9	83,1
8	F.M.H.	53	M	14,3	-	-
9	M.L.T.	4	M	26,1	3,6	86,2
10	J.M.A.P.	16	V	22,0	-	-
11	J.M.M.B.	32	V	18,3	3,1	83,0
12	J.F.P.	34	M	8,8	1,1	86,8
13	C.F.	43	M	5,6	-	-
14	J.S.D.	43	M	9,2	-	-
15	C.B.M.	39	M	19,5	-	-
16	M.A.M.M.	2	M	11,4	6,0	47,3
17	C.S.S.	17	M	8,1	9,3	0
18	J.J.G.B.	15	V	9,8	1,8	81,3
19	E.L.	21	M	16,8	-	-
20	E.C.G.	41	M	11,6	2,3	80,0
<u>Media.</u>				<u>14,7</u>	<u>3,6</u>	<u>69,5%</u>
				*****	*****	*****

ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO EN 7 PACIENTES OBESOS

Nº	Nombre	Edad	Sexo	Cortisol $\mu\text{g}/100 \text{ ml.}$		
				Basal	1/2 hora	2 horas
1	J.M.M.B	32	V	18,3	27,8	34,1
2	J.F.P.	34	M	8,8	21,7	35,8
3	C.F.	43	M	5,6	17,9	-
4	J.S.D.	43	M	9,2	14,2	16,4
5	M.A.M.M.	2	M	11,4	41,4	54,3
6	J.J.G.B.G15	V		9,8	25,3	28,3
7	E.C.G	41	M	11,6	21,5	34,8
<u>Media.</u>				<u>10,7</u>	<u>24,2</u>	<u>33,9</u>

==:==:==:==:==:==:==

TABLA VI-B-24

=====

SUPRESION NOCTURNA CON 1mg DE DEXAMETASONA EN 12 OBESOS

Nº	Nombre	Edad	Sexo	Cortisol $\mu\text{g}/100 \text{ ml.}$
1	J.J.P.M.	13	V	1,3
2	M.G.S.	48	M	0,6
3	P.P.S.	31	M	2,7
4	F.M.H.	53	M	0,7
5	J.Ch.	68	M	1,3
6	JM.A.P.	16	V	2,2
7	JM.M.B.	31	V	5,0
8	A.A.G.	27	M	4,0
9	M.A.M.M.	2	M	0,8
10	C.S.S.	17	M	0,9
11	J.J.G.B	15	V	1,6
12	A.S.R.	30	V	3,1
<u>Media.</u>				<u>2,0</u>

==:==:==:==:==:==:==

TABLA VI-B-24-bis

=====

ESTIMULO CON 25 U.I. DE ACTH EN PERFUSION I.V. DURANTE 8 HORAS

EN 5 SUJETOS OBESOS

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Basal Media</u>	<u>Goteo ACTH</u>	
				<u>1º</u>	<u>2º</u>
1	48	M	8,2	44,1	50,8
2	31	M	11,3	49,4	51,3
3	4	M	26,1	73,6	57,4
4	44	M	10,7	54,6	58,0
5	17	M	8,1	71,5	73,5
<u>Media.</u>			12,9	58,6	58,2
			=====	=====	=====

Supresión rápida con 1 mg. de Dexametasona nocturna (Nugent).

En 12 casos se ha efectuado la determinación del cortisol plasmático a la mañana siguiente de la administración nocturna de 1 mg. de Dexametasona oral, observándose una disminución del cortisol plasmático a niveles inferiores a 6 μg , siendo la media 2,0 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

Los valores individuales han sido señalados en la tabla VI-B-24.

Respuesta a la infusión i.v. de 25 U. de ACTH durante 8 horas.

En los 5 sujetos obesos en que se realizó esta prueba, el cortisol plasmático subió por encima de 44 μg sin sobrepasar los 74 μg , como se puede observar en la tabla VI-B-24 bis. La respuesta en conjunto fué si milar al 1º y 2º días de la infusión y no difiere de la obtenida en sujetos normales por el mismo método.

8. HIRSUTISMOS IDIOPATICOS.

En este grupo se han considerado una serie de mujeres afectas de - hirsutismo en un grado considerable, pero que estudiadas por los métodos habituales en nuestro país, no han podido ser catalogadas como portadoras de una patología suprarrenal u ovárica groseras.

El cortisol plasmático basal en 12 casos estudiados, han variado entre 8,5 y 23,7 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$., con una media de 13,9 μg ($\pm 4,7$). Por la noche la concentración del cortisol plasmático ha oscilado entre 2,3 y 6,7 μg , con una media de 4,4 μg ($\pm 1,8$) y una caída nocturna entre 40 y 82% siendo la media de 61,6%.

En 5 ocasiones se ha realizado una estimulación con 25 U. de ACTH - sintético en inyección i.v. directa consiguiendo en general duplicarse - los valores a la 1/2 hora (media 26,1 μg), y casi triplicarse a las 2 horas (media 38,4 μg).

Todos estos resultados agrupados están recogidos en la tabla VI-B-25.

HIRSUTISMOS: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

<u>Nº</u>	<u>Nombre</u>	<u>Edad</u>	<u>Ritmo circadiano</u>			<u>ACTH I.V. 25 U.</u>		
			<u>Basal</u>	<u>Noche</u>	<u>Caída</u>	<u>Basal</u>	<u>1/2 hora</u>	<u>2 horas</u>
1	F.M.M.	35	11,3	6,7	40,8	-	-	-
2	M.T.G.Q.	35	11,0	5,8	47,3	-	-	-
3	C.V.P.	35	19,1	-	-	-	-	-
4	M.T.G.T.	44	10,7	5,5	48,6	-	-	-
5	E.B.B.	10	8,5	-	-	-	-	-
6	M.S.	26	11,9	3,9	67,2	-	-	-
7	T.G.A.	20	20,7	-	-	-	-	-
8	C.G.P.	47	11,3	2,6	76,5	11,3	21,3	24,6
9	J.C.D.	16	14,5	2,4	82,6	14,5	30,3	36,7
10	G.P.D.	32	23,7	-	-	23,7	30,1	51,2
11	P.L.P.	24	12,6	6,3	50,0	12,6	27,5	44,8
12	E.C.	41	11,6	2,3	80,1	11,6	21,5	34,8
<u>Media. . . .</u>			13,9	4,4	61,6	14,7	26,1	38,4
			=====	=====	=====	=====	=====	=====

9. ACROMEGALIA.

Basal, noche, ritmo, estímulo con ACTH i.v. directo y en infusión de 8 horas.

Se ha estudiado 16 acromegalias en diferentes estadios de evolución. cuya actividad se ha estimado a través de métodos indirectos como son la evolución clínica, los síntomas oculares y radiológicos, fósforo, la curva de glucemia, etc. Su función suprarrenal se valuaba en función de la clínica y de las determinaciones de los 17-OHCS y 17-cetosteroides en la orina de 24 horas.

Las concentraciones basales variaron entre 5,5 y 27 $\mu\text{g}/100\text{ ml.}$ con una media de 13,5 μg ($\pm 6,6$). Por la noche, en 11 casos estudiados eran entre 0,8 y 16,9 μg , con una media de 5,1 μg . La caída nocturna estaba alterada en los casos nº 1 (15,0%) y nº 9 (35,2%) pero perfectamente conservada en el resto, con una media global de 63,8%.

La respuesta al ACTH sintético no ha sido alta en ningún caso, incluso a pesar de partir de basal elevada, como en el caso nº 9. En el caso nº 7, que la basal era baja, la respuesta fué algo deficiente, quizá tuviera en marcha una hipofunción hipofisaria secundaria al tratamiento radioterápico efectuado con anterioridad.

En el cuadro VI-B-26, están contenidos todos los resultados así como los de dos más que por tener una auténtica hipofunción hipofisaria secundaria a la extirpación del adenoma no han sido tenidos en cuenta al hacer los cálculos.

También se considera si la acromegalia era activa (sí) o inactiva(no) en el momento de la exploración, y el estado de función suprarrenal(N = =normal, A = aumentada, D = disminuida).

Los casos nº 5 y 15 son la misma persona. Un muchacho de 15 años con un gigantismo acromegálico que fué intervenido quirúrgicamente. Los datos del nº 15 corresponden a la fase postoperatoria.

La paciente nº 16, de 28 años, era una acromegalia que también había sido intervenida quirúrgicamente y poseía una auténtica hipofunción suprarrenal hipofisaria.

Nº	Nombre	Edad	Sexo	Basal	Noche	Caída	ACTH i.v. directo			Activ. acrom.	Función Suprarrenal
							Basal	1/2h.	2 h.		
1	J.Z.R.	37	V	13,3	11,3	15,0	-	-	-	No?	Normal
2	F.R.H.	40	M	27,2	1,3	95,2	-	-	-	Sí	- A
3	M.L.G.	31	M	13,9	3,5	74,8	-	-	-	No	N
4	M ^o P.M.R.22		M	15,4	3,0	80,5	-	-	-	No	N
5	J.C.I.	15	V	9,5	4,7	50,5	-	-	-	Sí	Normal ó algo D.
6	F.H.A.	49	V	11,2	0,8	92,8	-	-	-	No	- N
7	R.C.V.	45	V	5,5	3,1	43,6	5,5	19,0	27,2	No	Normal
8	A.T.B.	47	M	10,9	2,1	80,7	10,9	33,2	36,5	Sí	A?
9	A.H.F.	50	V	26,1	16,9	35,2	26,1	45,3	38,5	Sí	Normal
10	F.A.M.	53	V	11,3	4,8	57,5	11,3	23,1	31,6	No	Normal
11	J.J.M.	50	M	7,1	-	-	-	-	-	No	N
12	D.M.R.	25	M	20,1	4,5	77,2	20,1	27,0	36,2	No	N
13	M.P.B.	43	M	8,8	-	-	-	-	-	No	algo D.
14	M.A.M.	56	M	8,9	-	-	-	-	-	Sí	Normal
<u>Media.</u>				13,5	5,1	63,9	14,8	29,5	34,0		
15	J.C.I.	15	V	2,9	0	-	-	-	-	No	D
16	L.I.S.	28	M	1,6	0	-	1,6	15,4	27,3	No	D.

=====:=====

TABLA VI-B-27

=====

ACROMEGALIA: INFUSION DE ACTH DURANTE 8 HORAS.

Nº	Nombre	Edad	Sexo	Basal	Infusion ACTH 8h.		Actividad acromez.	Función Suprarrenal
					1 ^{er} día	2º día		
1	J.Z.R.	37	V	13,3	54,3	61,8	No	N
2	F.R.H.	40	M	25,5	86,5	-	Sí	A
3	M ^o P.M.R. 22		M	16,9	49,9	56,2	No	N
4	J.C.I.	15	V	9,5	45,2	41,2	Sí	N
<u>Media.</u>				16,3	58,9	53,0	(gigantismo)	
				=====	=====	=====		

El paciente nº 1 tenía una función suprarrenal normal, y ain embargo no mantenía el ritmo circadiano. No se encontró una explicación lógica. Bien pudiera tener una prolongación extrahipofisaria del adenoma - con afectación hipotalámica aunque no existiera evidencia clínica ni radiológica.

La paciente nº 2, tenía una basal elevada (27,2 µg) pero con un - ritmo perfectamente conservado, al contrario que el nº 9 que además de basal elevada (26,1 µg), tenía una caída nocturna de solo 35,2% con una concentración nocturna del cortisol elevada, 16,9 µg. Ambos parecían tener una acromegalia en actividad conforme a las consideraciones mencionadas al comienzo de este apartado. La función suprarrenal estimada por - los 17-OHCS en orina estaba elevada en la nº 2, lo que iba de acuerdo con esa cifra de cortisol basal elevada; en el nº 9 era normal, y efectivamente la respuesta al ACTH sintético no era excesiva a pesar de partir de una basal de 26,1 µg.

Otros pacientes considerados con acromegalia activa (nº 2, 5, 8 y 14) no tenían elevada la basal de cortisol ni otra alteración en las - pruebas realizadas, al igual que el resto de los pacientes considerados como acromegálicos en fase de reposo espontánea o por tratamiento radioterápico.

Además, en cuatro casos, también se estudió el cortisol plasmático al final de la infusión de 25 U. de ACTH durante 8 horas, en dos días - consecutivos, encontrando unos resultados similares a los obtenidos en sujetos normales, con solo un caso de respuesta excesiva y que corresponde al antes mencionado nº 2 con basal elevada (Tabla VI-B-27).

Estímulo con Lisina-8-Vasopresina.

Cinco casos corresponden a acromegalias en fase inactiva, después de tratamiento radioterápico (nº 1, 2 y 3) o quirúrgico (nº 4 y 6), y uno (nº 5) a una acromegalia activa.

En esos 5 casos la función suprarrenal estimada clínicamente y por la eliminación de los 17-OHCS en orina, era normal.

El caso nº 6, corresponde a una acromegalia operada, con una marca da hipofunción suprarrenal secundaria.

Como puede observar en la tabla VI-B-28 no hay diferencia entre el nº 5 (acromegalia activa) y los casos anteriores.

La paciente nº 4 respondió con un descenso del cortisol cuando se le puso la inyección de Lisina-Vasopresina por la mañana. Pero repetida la prueba por la tarde se comprobó un aumento de 8,4 µg. En sujetos normales también se ve a veces una falta de respuesta por la mañana, y por la tarde el estímulo es evidente.

Por último, el caso nº 6, no respondió a la Lisina-Vasopresina, ni por la mañana ni por la tarde, como era de esperar.

10. HIPOTIROIDISMO.

Se han estudiado 12 casos de hipofunción tiroidea determinando el cortisol basal y a la noche, la caída nocturna y en algunos de ellos, también se realizó una estimulación con ACTH sintético en inyección i.v.

No se ha pretendido estudiar a fondo la función suprarrenal del hipotiroidismo sino simplemente se han agrupado una serie de resultados de diversos enfermos hipotiroideos que por causas diversas se pensó en su función adrenal.

Las concentraciones basales del cortisol plasmático han oscilado - entre 8,1 y 30,8 µg, con una media de 18,0 µg. La media nocturna ha sido 12,2 µg, y en tres ocasiones (nº 2, 5 y 8) no existía caída nocturna del cortisol. (Tabla VI-B-29)

La respuesta al ACTH sintético ha sido normal en dos ocasiones (nº 8 y 10) y elevada en los casos nº 1 y 2, junto con un marcado retraso en la recuperación de los valores basales a las 5 horas de verificado el estímulo.

HIPOTIROIDISMOS: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

Nº	Nombre	Edad	Sexo	Cortisol ug/100 ml.			ACTH i.v.	25 U.		
				Basal	Noche	Caida%	Basal	1/2 H.	2 H.	5 H.
1	M.C.G.	56	M	26,2	15,0	42,7	26,2	44,9	59,7	40,3
2	M.S.P.	37	V	30,8	30,2	2,0	30,8	47,7	-	41,1
3	J.B.B.	39	M	17,1	4,6	73,0	-	-	-	-
4	J.C.P.	44	M	17,3	8,9	48,5	-	-	-	-
5	S.O.V.	64	V	25,1	23,7	5,5	-	-	-	-
6	M ^a .R.G.	29	M	17,6	10,9	38,0	-	-	-	-
7	E.M.M.	39	M	15,6	-	-	-	-	-	-
8	E.B.G.	42	M	9,4	12,3	0	9,4	23,6	25,8	-
9	T.F.S.	59	M	8,1	2,2	72,8	-	-	-	-
10	G.M.A.	47	V	13,2	2,1	84,0	13,2	22,1	31,4	15,7
<u>Media.</u>				18,0	12,2	40,7	19,9	34,6	38,9	32,4
11	M.M.M.	29		0	0	-	0	0,4	0	-
12	A.D.C.	40		3,4	1,7	-	3,4	2,8	2,8	-

100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 1040 1041 1042 1043 1044 1045 1046 1047 1048 1049 1050 1051 1052 1053 1054 1055 1056 1057 1058 1059 1060 1061 1062 1063 1064 1065 1066 1067 1068 1069 1070 1071 1072 1073 1074 1075 1076 1077 1078 1079 1080 1081 1082 1083 1084 1085 1086 1087 1088 1089 1090 1091 1092 1093 1094 1095 1096 1097 1

Todas esas particularidades se observaron con independencia de la etiología primaria o secundaria del hipotiroidismo.

Los casos nº 11 y 12 no están considerados en los cálculos estadísticos ya que tenían la particularidad de presentar simultáneamente una hipofunción suprarrenal primaria (nº 11) y secundaria (nº 12). El primero fué diagnosticado de síndrome de Schmidt y los resultados expuestos a continuación están obtenidos cuando su función tiroidea estaba compensada con el tratamiento sustitutivo. La paciente nº 12, presentaba un síndrome de Sheehan y curiosamente no respondía al ACTH sintético en inyección i.v. directa, quizá debido al tratamiento prolongado con esteroides puesto que estimulada de forma más fuerte mediante inyecciones i.m. de ACTH gel y posterior infusión i.v. de ACTH durante 8 horas, se consiguió una concentración de 16,6 µg de cortisol por 100 ml. de plasma. Por el contrario, en el síndrome de Schmith (nº 11), la perfusión i.v. prolongada de ACTH no aumentó la respuesta.

11. HEPATOPATIAS CRONICAS.

En total han sido estudiados 9 pacientes con hepatopatías crónicas, de los cuales 4 casos correspondían a hemocromatosis sin clínica de afectación suprarrenal, diagnosticados clínicamente y con biopsia hepática.

Los resultados han sido expresados en la tabla VI-B-30.

Las basales de ambos grupos no difieren notablemente, pero sí es mayor la concentración nocturna del cortisol plasmático en el grupo de hepatopatías crónicas (9,8 µg) comparado con el de las hemocromatosos (3,7 µg) y asimismo es menor la caída nocturna en los primeros (36,7%) que en los segundos (64%).

En las pruebas de estimulación con ACTH sintético en inyección i.v. directa no difiere el único cirrótico estudiado, de los dos hemocromatósicos. Los tres responden pobremente al estímulo como si la reserva suprarrenal fuera deficiente.

Sin embargo los tres pacientes con hepatopatías crónicas (sin hemocromatosis) a los que se practicó el estímulo prolongado durante 8 horas dos días consecutivos, respondieron perfectamente, incluso uno de ellos (nº 3) algo más de lo normal: (Tabla VI-B-31)

En cualquier caso, el grupo de pacientes estudiado está constituido por un número muy escaso como para pretender obtener conclusiones válidas. Su inclusión en esta tesis solo pretende llamar la atención para un estudio posterior más profundo y con mayor número de casos, de ambos grupos de pacientes.

12. GRUPO MISCELANEO.

Basal, noche, y estimulación con ACTH i.v. directo.

Aquí se han recogido los datos referentes al cortisol plasmático, de una serie de pacientes no incluidos en ningunos de los apartados anteriores.

Los resultados, así como el diagnóstico de cada uno de ellos están recogidos en la tabla VI-B-32.

Como se puede apreciar por las cifras medias, los resultados no difieren significativamente del grupo de los normales, lo cual era de esperar puesto que la mayoría de los sujetos considerados padecían enfermedades que no repercutían sobre la función de las glándulas suprarrenales.

Sin embargo, se pueden comentar algunos casos concretos. Así los números 5, 8 y 26, estaban diagnosticados de síndrome adrenogenital congénito; mientras que el nº 5 tiene una basal baja, los otros dos no y responden bien aunque en diferente grado al ACTH i.v. directo. Lógicamente esas diferencias se pueden explicar por el tipo y grado de defecto enzimático.

El caso nº 7, mujer de 28 años, presenta un enanismo y diabetes insípida de etiología traumática, pero su función suprarrenal permanecía conservada como puede observarse en esos resultados. El hecho de no man

GRUPO MISCELANEO: RITMO CIRCADIANO Y ESTIMULO CON ACTH I.V. DIRECTO

Nº	Edad	Sexo	Ritmo circadiano			ACTH i.v. 25U.			Diagnóstico
			Basal	Noche	Caída	Basal	1/2h.	2 h.	
1	22	V	10,4	-	-	-	-	-	Miastenia
2	21	M	9,8	2,1	78,5%	-	-	-	Amenorrea
3	32	V	11,0	-	-	-	-	-	Astenia cólica
4	40	M	6,7	0,5	92,5%	-	-	-	Astenia. Neurosis
5	1	M	3,6	-	-	-	-	-	Síndr.adrenogenital congénito (xx)
6	52	M	13,0	-	-	-	-	-	Cáncer mama.Metástasis pulmonares.
7	28	M	13,8	13,8	0 %	13,8	36,4	47,7	Enanismo y diabetes insípida
8	5	M	23,1	7,1	69,2%	23,1	31,5	32,1	Síndr.adrenogenital congénito en ttº.
9	6	M	10,1	-	-	-	-	-	Hirsutismo
10	21	V	6,7	-	-	-	-	-	Alopecia generalizada
11	1,5	M	14,3	-	-	-	-	-	Mosaico xxxx/xx
12	16	M	23,3	0,8	96,5%	-	-	-	Enanismo.Retraso menar- quia.
13	60	M	14,8	-	-	-	-	-	Coma mixedematoso en tt
14	32	M	15,3	-	-	-	-	-	Hipertiroidismo en ttº. preparatorio con Neome cazole.
15	39	V	12,6	-	-	12,6	29,8	36,7	Eunucoidismo hipofisari
16	38	M	11,6	1,7	85%	-	-	-	Virilismo ovárico
17	16	V	11,8	3,1	73,6%	11,8	27,5	40,0	Síndr.Cornelia Lange
18	15	M	29,6	6,7	77,1%	29,6	43,2	49,3	Diabetes descompensada
19	14	M	10,4	2,3	77,8%	10,4	22,0	31,3	Amenorrea primaria
20	72	V	14,3	-	-	-	-	-	Eritrodermia psoriásica

. . . / . . .



Nº	Edad	Sexo	Ritmo circadiano			ACTH i.v. 25 U			Diagnóstico
			Basal	Noche	Caída	Basal	1/2 h	2 h.	
21	23	M	10,8	7,8	27,8%	-	-	-	Coma cerebral p.trauma
22	28	V	8,0	-	-	-	-	-	Lepra lepromatosa
23	21	M	2,8	-	-	-	-	-	Nefrosis
24	27	V	10,9	6,1	54%	10,9	18,4	21,0	Depresión. Astenia
25	46	V	14,9	5,7	61,6%	14,9	31,0	39,0	Esterilidad
26	16	M	12,5	3,1	75,0%	12,5	26,2	37,5	Síndr.adrenogenital congénito
27	49	M	16,6	4,9	70,3%	16,6	35,1	37,0	Tumor cerebral con diabetes insípida
28	36	V	19,3	-	-	-	-	-	Hipertiroidismo
29	59	M	19,0	-	-	-	-	-	Hipertiroidismo
30	63	V	11,3	1,8	84,0%	-	-	-	Hipertiroidismo
<u>Media</u> 29,9			13,1	4,5	68,2	15,6	30,1	37,6	
*****			*****	*****	*****	*****	*****	*****	

=====

tener el ritmo circadiano podría atribuirse a alteraciones hipotalámicas en relación con el trauma sufrido en su infancia.

La basal elevada (29,6 μ g) del caso nº 15, está en relación con su diabetes descompensada.

La escasa caída nocturna del nº 21 queda explicada por el coma traumático cerebral que padecía en esos momentos.

Es curiosa la concentración basal tan baja del cortisol en una nefrosis (nº 23), seguramente por disminución de la transcortina, pues tenía una intensa hipoproteinemia (4,0 g.) con hipoalbuminemia (1,4 g.).

La paciente nº 27, tenía un tumor cerebral invasivo con diabetes insípida secundaria al mismo, y sin embargo mantenía intacto el ritmo circadiano y la respuesta al ACTH.

Por último están consignadas cuatro hipertiroideos (nº 14, 28, 29 y 30) cuyas concentraciones basales del cortisol plasmático eran normales.

Estímulo con Lisina-8-Vasopresina.

Se ha realizado en 11 sujetos a las 9 horas de la mañana, y en 4 de ellos también se repitió la prueba a las 17,00 horas de otro día, (tabla VI-B-33).

Se pueden comentar algunos casos como los números 4 y 10, que con una diabetes insípida y simultáneamente un enanismo (nº 4), ó un tumor cerebral (nº 10), carecían de afectación del ACTH como se comprobó por las basales del cortisol plasmático y la respuesta al estímulo con ACTH i.v. y se corroboró con la buena respuesta a la inyección de Lisina-Vasopresina, más visible por la tarde que por la mañana en el caso nº 10.

La prueba realizada en la paciente con hemocromatosis (nº 6) demuestra la falta de afectación hipofisaria por el depósito de hierro.

La niña de 14 años incluida en el nº 7, tenía una amenorrea primaria con estigmas del síndrome de Turner y una silla turca pequeñísima de 2-3 mm de diámetro anteroposterior. Sin embargo, la función corticotrofa estaba perfectamente conservada como se puede ver en la respuesta de la mañana y de la tarde.

GRUPO MISCELANEO: ESTIMULO CON 10 U.I. DE LISINA-8-VASOPRESINA

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 104

En general los datos obtenidos son muy semejantes a los del grupo de los normales, observándose que mientras el aumento medio experimentado por la mañana es de 8,3 μ g, equivalente al 62,5% de la basal, por la tarde el incremento medio es de 15,7 equivalente al 216,6% de la basal de la tarde.

El último caso reseñado, el nº 11, corresponde a una mujer suprarrenalectomizada por hiperplasia suprarrenal con síndrome de Cushing, y que posteriormente, a los 4 años, desarrolló un adenoma hipofisario. Tenía unos restos suprarrenales que le permitían prescindir algún tiempo de la terapia sustitutiva. Pero naturalmente estaban trabajando al máximo y no podía haber respuesta a la Lisina-Vasopresina como se puede observar en los resultados expuestos, que probablemente hubieran sido muy diferentes si en lugar de cortisol plasmático hubiéramos determinado ACTH.

RESULTADOS

C) COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DEL CORTISOL EN PLASMA

*** *****

Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES EN LA ORINA DE 24 HORAS.

RESULTADOS

C) COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DEL CORTISOL EN PLASMA

Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES EN LA ORINA DE 24 HORAS.

Se han agrupado en este apartado los resultados de aquellos sujetos en que se realizaron al mismo tiempo determinaciones de los 17-hidroxycorticoides urinarios y del cortisol plasmático.

Primero se han intentado relacionar las basales de ambas determinaciones hormonales y luego los resultados de la estimulación con ACTH.

Además se han comparado los resultados de la supresión de dexametasona y por último la prueba de la metopirona y de la Lisina-8-Vasopresina en unos pocos casos en que se realizaron ambas.

1. BASALES.

Las basales de 17-hidroxycorticoides en orina (mg/24 h.), y del cortisol en plasma ($\mu\text{g}/100 \text{ ml.}$) están recogidas en el cuadro VI-C-1, de forma individual, sumando un total de 122 determinaciones comparables.

Al establecer si un par de valores son similares o no, se ha tenido en cuenta por un lado, los datos del cortisol plasmático de los sujetos considerados en los apartados VI-A y VI-B, y para los 17-OHCS, los valores que se dan como normales en el laboratorio del Dr. Vivanco de la Fundación Jiménez Díaz. Por otra parte no se ha intentado establecer una correlación matemática entre la concentración del cortisol en plasma y la de los 17-OHCS en orina de 24 horas; si ambos valores (cortisol plasmático y 17-OHCS urinarios) estaban dentro de los límites normales se dice que existe una similitud; y lo mismo si ambos estaban por debajo o por encima. Pero si

COMPARACION DE LAS BASALES DEL CORTISOL EN PLASMA Y DE LOS

17-HIDROXICORTICOIDES EN ORINA DE 24 HORAS.

VALORES INDIVIDUALES

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>CORTISOL</u> <u>µg/100 ml.</u>	<u>17-OHCS</u> <u>mg/24 h.</u>	<u>D I A G N O S T I C O</u>
1	31	M	10,1	12,3	Normal
2	32	V	11,0	8,5	Normal
3	44	V	16,7	8,7	Normal
4	35	M	12,4	4,8	Normal
5	28	V	22,3	10,3	Normal
6	18	M	16,8	8,0	Normal
7	30	M	15,0	1,5	Normal
8	29	V	1,9	4,4	Addison
9	36	V	0,0	0,6	Addison
10	46	V	8,9	11,5	Addison
11	41	M	10,0	7,0	Addison
12	53	V	0,0	5,2	Addison
13	46	V	4,5	6,8	Addison
14	31	V	2,2	4,2	Addison
15	37	V	1,8	0,7	Addison
16	55	M	1,0	3,4	Addison
17	36	V	6,1	4,3	Addison
18	35	M	8,4	5,4	Addison
19	35	M	0,0	0,0	Addison
20	49	V	0,5	3,1	Addison
21	36	V	5,1	0,0	Addison
22	23	M	11,6	7,0	Reserva suprarrenal disminuída
23	53	M	18,0	6,3	Reserva suprarrenal disminuída
24	50	V	9,5	6,3	Reserva suprarrenal disminuída
25	33	M	16,0	6,7	Reserva suprarrenal disminuída
26	50	V	7,1	3,9	Reserva suprarrenal disminuída

Nº	Edad	Sexo	CORTISOL	17-OHCS	D I A G N O S T I C O
			µg/100 ml	mg/24 h.	
27	49	V	19,1	4,0	Melanosis
28	14	M	16,8	7,9	Melanosis
29	30	M	13,5	10,9	Melanosis
30	44	V	7,9	6,0	Melanosis
31	42	M	7,7	7,9	Melanosis
32	15	V	2,9	3,8	Insuficiencia adrenal hipofisaria
33	37	M	1,1	8,3	Insuficiencia adrenal hipofisaria
34	4	M	2,8	0,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
35	6	V	3,9	0,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
36	36	V	6,9	4,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
37	50	V	3,7	3,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
38	40	M	0,0	0,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
39	28	M	1,6	5,6	Insuficiencia adrenal hipofisaria
40	30	M	2,3	3,3	Insuficiencia adrenal hipofisaria
41	13	M	2,9	3,0	Insuficiencia adrenal hipofisaria
42	36	M	12,6	12,6	Hiperfunción suprarrenal
43	16	M	13,8	15,0	Hiperfunción suprarrenal
44	44	M	34,5	19,2	Hiperfunción suprarrenal
45	37	V	32,6	33,6	Hiperfunción suprarrenal
46	28	M	25,0	13,6	Hiperfunción suprarrenal
47	39	M	26,6	12,7	Hiperfunción suprarrenal
48	36	M	14,4	15,7	Hiperfunción suprarrenal
49	30	M	19,1	7,8	Hiperfunción suprarrenal
50	60	V	46,9	80,5	Hiperfunción suprarrenal
51	35	M	18,6	18,4	Hiperfunción suprarrenal
52	29	M	22,5	11,3	Hiperfunción suprarrenal
53	32	M	39,2	46,0	Hiperfunción suprarrenal
54	25	M	25,5	13,3	Hiperfunción suprarrenal
55	43	M	9,2	16,8	Obesidad
56	17	M	8,1	14,3	Obesidad
57	44	M	10,7	23,7	Obesidad

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>CORTISOL</u> <u>µg/100ml.</u>	<u>17-OHCS</u> <u>mg/24 h.</u>	<u>D I A G N O S T I C O</u>
58	32	V	18,3	26,0	Obesidad
59	35	M	19,1	8,3	Obesidad
60	34	M	8,8	5,8	Obesidad
61	43	M	14,3	11,3	Obesidad
62	39	M	19,5	9,5	Obesidad
63	40	M	18,9	6,9	Obesidad
64	21	M	23,8	14,6	Obesidad
65	55	M	16,2	12,3	Obesidad
66	2	M	10,0	4,2	Obesidad
67	21	M	23,8	14,7	Obesidad
68	15	V	9,8	12,0	Obesidad
69	48	M	8,2	3,9	Obesidad
70	31	M	11,3	9,9	Obesidad
71	41	M	11,6	13,8	Obesidad
72	35	M	11,3	11,0	Hirsutismos
73	21	M	12,6	7,6	Hirsutismos
74	35	M	11,0	9,7	Hirsutismos
75	41	M	11,6	13,8	Hirsutismos
76	35	M	19,1	8,3	Hirsutismo
77	20	M	20,7	11,6	Hirsutismo
78	44	M	10,7	23,7	Hirsutismo y obesidad
79	16	M	14,5	13,1	Hirsutismo
80	26	M	11,9	7,4	Hirsutismo
81	47	M	11,3	5,4	Hirsutismo
82	37	V	13,3	11,3	Acromegalias
83	56	M	8,9	7,7	Acromegalia
84	40	M	25,5	11,5	Acromegalia
85	53	V	11,3	8,4	Acromegalia
86	22	M	15,8	13,5	Acromegalia
87	47	M	10,9	16,5	Acromegalia
88	15	V	7,5	13,5	Acromegalia
89	43	M	8,8	6,4	Acromegalia

<u>Nº</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>CORTISOL</u> <u>µg/100ml.</u>	<u>17-OHCS</u> <u>mg/24 h.</u>	<u>D I A G N O S T I C O</u>
90	49	V	11,2	9,6	Acromegalia
91	31	M	13,9	14,0	Acromegalia
92	45	V	5,5	9,0	Acromegalia
93	50	M	7,1	8,3	Acromegalia
94	50	V	26,1	13,8	Acromegalia
95	56	M	26,2	12,0	Hipotiroidismo
96	42	M	9,4	7,0	Hipotiroidismo
97	37	V	30,8	5,3	Hipotiroidismo
98	54	V	29,4	2,8	Hepatomegalia
99	34	V	11,7	5,5	Cirrosis
100	34	V	14,6	5,0	Esteatosis hepática.
101	39	V	19,4	11,0	Cirrosis
102	46	V	8,0	8,2	Cirrosis
103	36	V	11,8	4,8	Hemocromatosis
104	52	M	11,4	3,0	Hemocromatosis
105	53	V	22,1	11,6	Hemocromatosis
106	48	V	7,4	6,2	Hemocromatosis
107	22	V	10,4	1,5	Miastenia
108	21	M	9,8	1,6	Aménorrea
109	40	M	6,7	6,0	Neurosis
110	52	M	13,0	10,6	Cáncer mama con metástasis pulm.
111	5	M	23,1	6,0	Síndrome adrenogenital congénito
112	6	M	10,1	6,1	Síndrome adrenogenital congenito
113	21	V	6,7	5,4	Alopecia total
114	9	M	21,7	7,2	Lanugo
115	16	M	23,3	2,8	Turner?
116	28	M	13,8	6,6	Enanismo. Diabetes insípida.
117	16	M	12,5	6,8	Síndr. adrenogenital congénito
118	48	M	16,6	6,0	Tumor cerebral con diab. insípida
119	46	V	14,9	21,6	Esterilidad
120	38	M	11,6	12,4	Virilismo ovárico
121	14	M	10,4	8,7	Turner?
122	15	M	29,6	4,3	Diabetes descompensada.

discrepaban por ser uno alto y otro normal o bajo, o viceversa, no se consideraba real tal similitud.

Según esto, se puede considerar que las 122 determinaciones practicadas en el total de los diferentes grupos de pacientes, existía una buena correspondencia en el 85,2% y faltaba en 18 casos (14,7%), que se repartían según indica la tabla VI-C-2.

De esos 18 casos que discrepan, 4 de ellos (nºs 7, 107, 108 y 122) se explicaron por interferencia medicamentosa en la reacción de coloración de los 17-OHCS urinarios, que ocasionaba una falsa disminución de los mismos. El paciente nº 27, tenía un cortisol perfectamente normal y unos 17-OHCS en el límite bajo, sin que se encontrara una explicación satisfactoria.

En la paciente con insuficiencia suprarrenal de origen hipofisario - (nº 33), los 17-OHCS elevados (en relación con el cortisol bajo) estaban ocasionados por la ingestión de corticoides. Cuatro pacientes obesos (nºs 55, 56, 57 y 58) y uno de los hirsutismos (nº 78), tenían 17-OHCS elevados y un cortisol normal, fenómeno explicable por el aumento de masa corporal como se discutirá en el apartado VII. Parecido ocurría en algunas acromegalias (nºs. 87, 88 y 91). En uno de los hipotiroides (nº 97), y en un paciente con hepatopatía (nº 98), los 17-OHCS estaban disminuidos en relación con el cortisol plasmático a causa del metabolismo lento del mismo. El paciente nº 115, parece ser que tenía unos 17-OHCS bajos por defecto en la recogida de la orina, y el nº 119, con 17-OHCS elevados y cortisol plasmático normal, corresponde a un paciente con esterilidad cuyo estudio no quedó completamente aclarado.

En el grupo de las hiperfunciones suprarrenales los casos nºs. 49 y 53 son la misma paciente que en el primer caso estaba recientemente operada de cáncer suprarrenal y después volvió con una clínica muy manifiesta de Cushing, con metástasis generalizadas, que tenía la correspondiente expresión bioquímica. En ambas situaciones la semejanza entre el cortisol plasmático y los 17-OHCS en orina de 24 horas, es muy manifiesta. El caso nº 45 tenía una hiperplasia nodular y además un adenoma en la suprarrenal izquierda. El paciente nº 50 con cortisol y 17-OHCS muy elevados parecía

COMPARACION ENTRE LAS BASALES DEL CORTISOL PLASMATICO Y DE LOS
17-HIDROXICORTICOIDES EN ORINA DE 24 HORAS

<u>VALORACION DE CONJUNTO</u>			
	<u>Nº de casos</u>	<u>Similitud</u>	
		<u>Positiva</u>	<u>Negativa</u>
NORMALES.	7	6	1
ADDISON	14	14	0
RESERVA ADRENAL DISMINUIDA	5	5	0
MELANOSIS	5	4	1
INSUF. ADRENAL HIPOFISARIA	10	9	1
HIPERFUNCION SUPRARRENAL	13	13	0
OBESIDAD.	17	13	4
HIRSUTISMOS	10	9	1
ACROMEGALIAS.	13	10	3
HIPOTIROIDISMOS	3	2	1
HEPATOPATIAS.	9	8	1
MISCELANEO.	16	11	5
<u>TOTAL. . . .</u>	<u>122</u>	<u>104 -85,2%</u>	<u>18 - 14,7%</u>

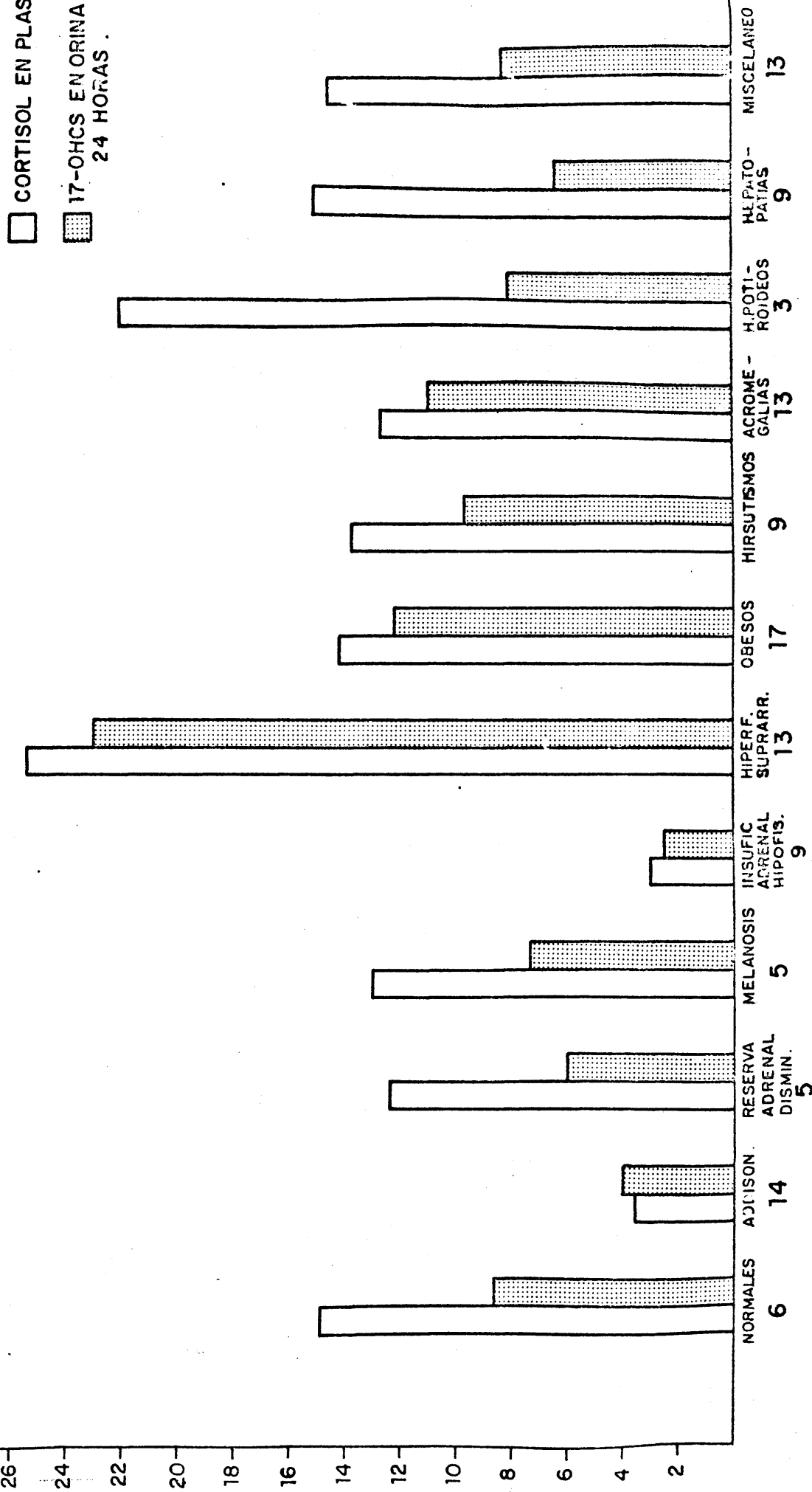
GRAFICA VI-C-1

COMPARACION DE LAS BASEALES DEL CORTISOL EN PLASMA Y DE
LOS 17-HIDROXCORTICOIDES EN ORINA DE 24 HORAS

VALORES MEDIOS

CORTISOL
 $\mu\text{g}/100\text{ml.}$

17-OHCS
 $\text{mg}/24\text{h.}$



CORTISOL EN PLASMA
 17-OHCS EN ORINA 24 HORAS

corresponder a un síndrome de ACTH ectópico, aunque por su muerte rápida y la falta de autopsia no se pudo confirmar tal diagnóstico,

Si se consideran las medias de cada grupo de pacientes, se obtiene la gráfica VI-C-1, de la que se han excluido los 5 casos de discrepancia por influencias exógenas (nºs. 7, 107, 108, 122 y 33).

En ella se puede observar como los 17-OHCS expresados en mg/24 h. - caen por debajo del cortisol expresado en $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Esa diferencia se - acentúa en las hepatopatías y en los hipotiroideos, se atenúa en los obe - sos y acromegalias y desaparece en las insuficiencias suprarrenales.

En el grupo de las hepatopatías crónicas, al igual que en los apar - tados VI-A y VI-B, se incluyen 4 hemocromatosis cuya función suprarrenal no parecía afecta en el momento del estudio, por lo que su inclusión no modifica el resultado del conjunto. Además sus resultados son similares a los de los pacientes con hepatopatía crónica no hemocromatósica.

2. RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA A LA INYECCION I.V. DIRECTA DE 25 U. DE ACTH SINTETICO Y DE LOS 17-OHCS URINARIOS A LA INFUSION DE 25 U. DE ACTH DURANTE 8 HORAS.

La comparación de ambas pruebas se ha realizado en un total de 38 sujetos y sus resultados agrupados según el diagnóstico estan recogidos en la tabla VI-C-3.

En ella se puede observar cómo abunda la correspondencia entre el cortisol en plasma y los 17-hidroxycorticoides en orina, y que falta en algunos casos. En conjunto se puede considerar un 78,9% de casos de co - rrespondencia favorable y un 21,0% de falta de paralelismo o similitud negativa (tabla VI-C-4).

El número 6 corresponde a un paciente con enfermedad de Addison por amiloidosis secundaria, carecía de subida del cortisol ante el estímulo, pero la respuesta de los 17-OHCS urinarios parecía indicar una reserva adrenal disminuida, sin embargo se agrupó entre los addisonianos por - estar pigmentado y carecer de ritmo circadiano del cortisol plasmático.

COMPARACION DE LA RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO A LA INYECCION I.V. DIRECTA
DE ACTH, CON LA RESPUESTA DE LOS 17-OHCS URINARIOS A LA INFUSION DE ACTH EN 8 H.

VALORES INDIVIDUALES

Nº	Edad	Sexo	Cortisol : µg/100 ml.			17 - OHCS : mg/24 horas				Di nóstico
			Basal	1/2hora	2horas	Basal	1 ^{er} día	2 ^a día		
1	18	M	16,8	27,4	37,8	8,0	35,7	34,2	Normal.	
2	36	V	0,0	0,0	3,1	0,6	0,0	0,0	Addison	
3	37	V	1,8	2,4	4,4	0,7	0,0	0,0	Addison	
4	55	M	1,0	1,0	1,0	3,4	3,8	4,5	Addison	
5	35	M	8,4	9,0	8,4	5,4	5,9	6,0	Addison	
6	46	V	4,5	4,2	3,8	6,8	10,6	14,7	Addison	
7	33	M	16,0	17,8	20,1	6,7	8,9	9,6	Resrv.Adre.Dism	
8	53	M	18,0	20,9	25,5	7,3	14,5	17,4	Resrv.Adr.Dism.	
9	23	M	11,6	18,1	23,3	7,0	10,8	17,8	Resrv.Adr.Dism.	
10	47	V	19,1	29,5	20,4	4,0	22,8	23,6	Melanosis no A	
11	14	M	16,8	26,8	28,1	7,9	13,1	22,4	Melanosis no Ad	
12	30	M	13,5	34,1	44,7	10,9	24,6	24,8	Melanosis no Ad	
13	44	V	7,9	23,8	38,0	6,0	21,0	26,0	Melanosis no A	
14	37	M	1,1	1,1	4,5	7,5	17,3	-	Insuf.Suprarr.	
15	50	V	3,7	5,6	10,0	5,0	25,4	21,7	hipofisaria. idem.	
16	13	M	2,9	22,6	31,9	3,0	7,7	13,0	idem,	
17	28	M	1,6	15,4	27,3	5,6	32,6	30,4	idem.	
18	36	M	16,8	32,6	46,9	12,6	52,0	50,2	Cushing	
19	16	M	13,8	32,1	57,4	15,3	55,3	50,5	Cushing	
20	44	M	34,5	72,1	84,5	24,3	50,5	51,1	Cushing	
21	37	V	32,6	72,4	119,3	33,6	93,7	145,0	Cushing	
22	28	M	25,0	47,7	49,6	13,6	31,6	80,7	Cushing	
23	29	M	22,5	35,5	55,0	11,2	29,1	19,5	Cushing.Neop	
24	35	M	18,6	47,6	93,0	18,5	55,0	72,0	Cushing	

(continuación tabla VI-C-3)

[illegible][illegible]

COMPARACION DE LA RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO A LA INYECCION I.V. DIRECTA
DE ACTH, CON LA RESPUESTA DE LOS 17-OHCS URINARIOS A LA INFUSION DE ACTH EN 8H.

VALORACION EN CONJUNTO

	<u>Nº de casos</u>	<u>Similitud</u>	
		<u>Positiva</u>	<u>Negativa</u>
NORMALES	1	1	0
ADDISON.	5	4	1
RESERVA ADRENAL DISMINUIDA	3	2	1
MELANOSIS.	4	4	0
INSUF. ADRENAL HIPOFISARIA	4	3	1
HIPERFUNCION SUPRARRENAL	7	6	1
OBESIDAD	2	0	2
HIRSUTISMO	2	2	0
ACROMEGALIA.	4	3	1
HEMOCROMATOSIS	1	1	0
MISCELANEO.	5	4	1
<u>TOTAL. . .</u>	<u>38</u>	<u>30 = 78,9%</u>	<u>8 = 21,0%</u>

El nº 7, por el contrario presenta una falta de respuesta a los 17-OHCS urinarios, mientras que existe aunque muy ligera en plasma. Por ello, por tener la piel blanca y conservar íntegro el ritmo del cortisol (mañana 16,0 µg, noche 4,0 µg) está agrupada dentro de las insuficiencias parciales (reserva adrenal disminuida). Se trata de una paciente suprarrenalectomizada por Cushing 2 años antes de verificadas estas pruebas.

La paciente nº 14, apenas responde en plasma mientras que la subida de los 17-OHCS en orina es más evidente.

De las siete hiperfunciones suprarrenales merece la pena mencionar a la nº 23, que padecía una neoplasia suprarrenal de escasa malignidad histológica pero que respondía notablemente en plasma y con mediana intensidad en orina.

En los dos pacientes obesos (nºs. 25 y 26) la eliminación de los 17-OHCS después del estímulo con ACTH estaban aumentada pero la respuesta del cortisol plasmático era normal. Lo mismo ocurría en una paciente con acromegalia (nº 29) que era también obesa.

Por último, en el caso nº 38, la discrepancia parecía estar ocasionada por deficiente recolección urinaria.

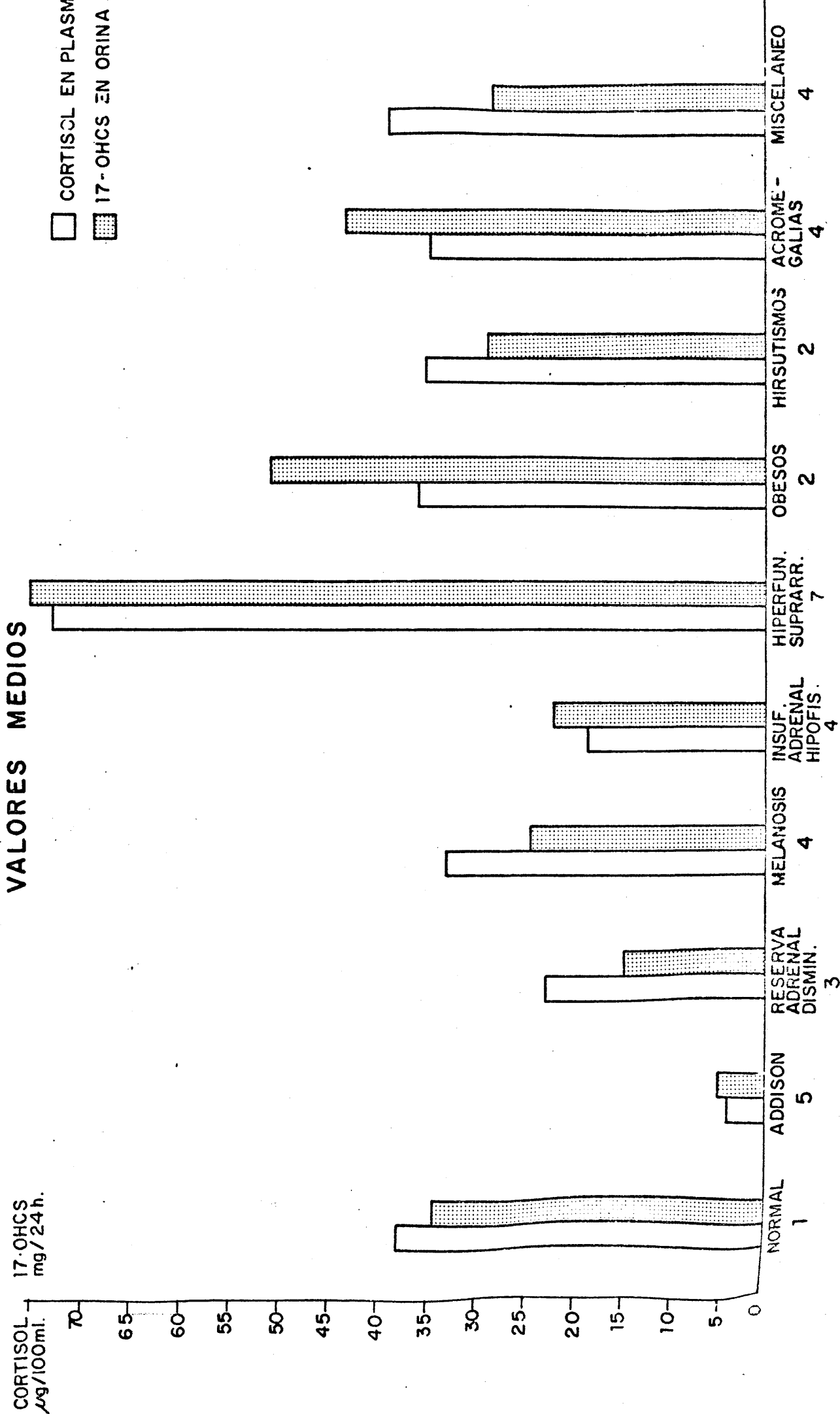
Si se comparan las concentraciones del cortisol plasmático a las 2 - horas del estímulo con ACTH i.v. directo, con la eliminación de los 17-hidrocorticoides en orina, el 2º día de la infusión del ACTH, se puede - hacer la gráfica VI-C-2, teniendo en cuenta las medias de cada grupo.

Igual que sucedía con las concentraciones basales del cortisol y 17-OHCS, aquí falta la correspondencia en el grupo de los obesos y en las - acromegalias, indicando un aumento en la eliminación de 17-OHCS mientras que se mantienen normales las concentraciones en plasma.

Con las medias basales y después del estímulo con ACTH correspondientes al cortisol y a los 17-OHCS de los grupos más representativos, se puede hacer otra gráfica (VI-C-3) que muestra el paralelismo de la concentración plasmática del cortisol con la eliminación de los 17-OHCS en orina.

GRAFICA VI-C-2

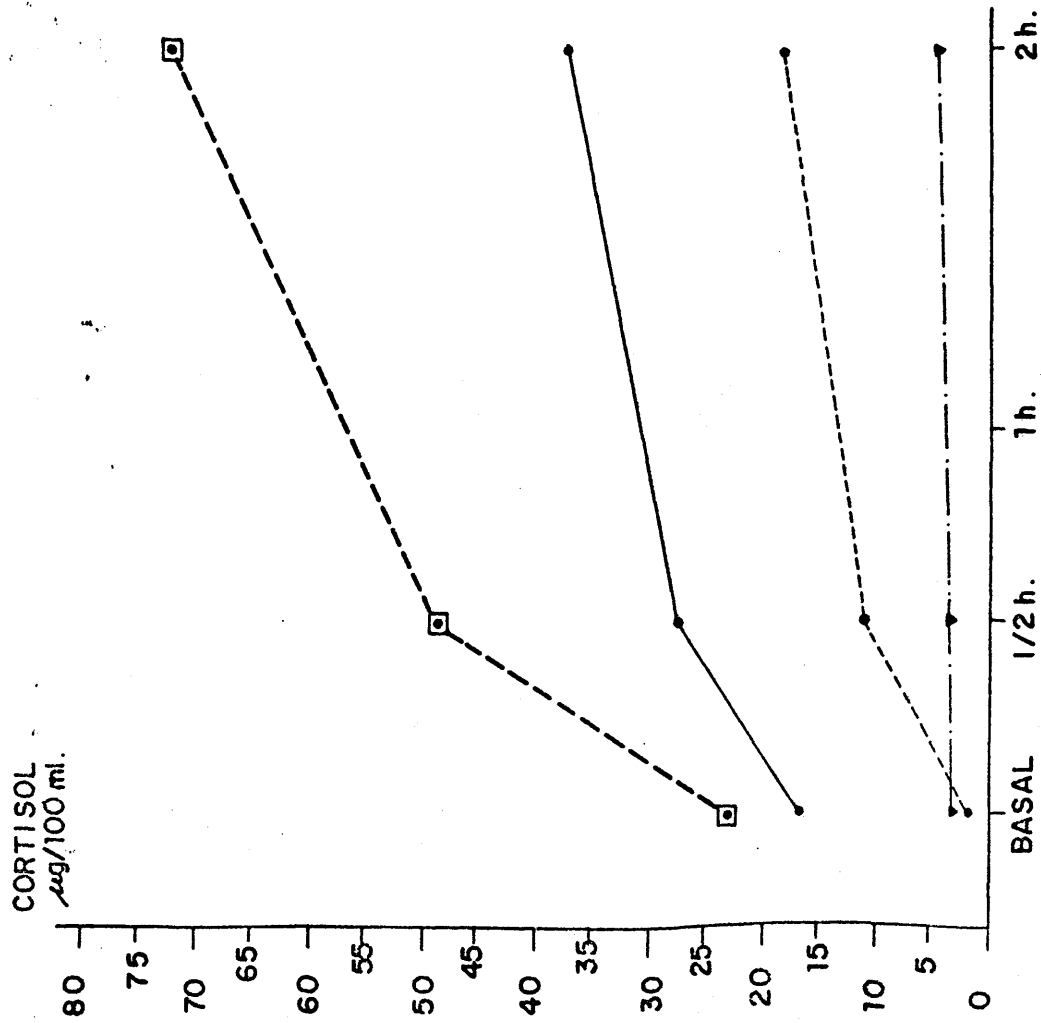
COMPARACION DEL CORTISOL PLASMATICO A LAS 2 HORAS DEL ESTIMULO I.V DIRECTO DE ACTH SINTETICO CON LOS 17-HIDROXICORTICOIDES EN ORINA EL 2º DIA DE INFUSION DE ACTH .



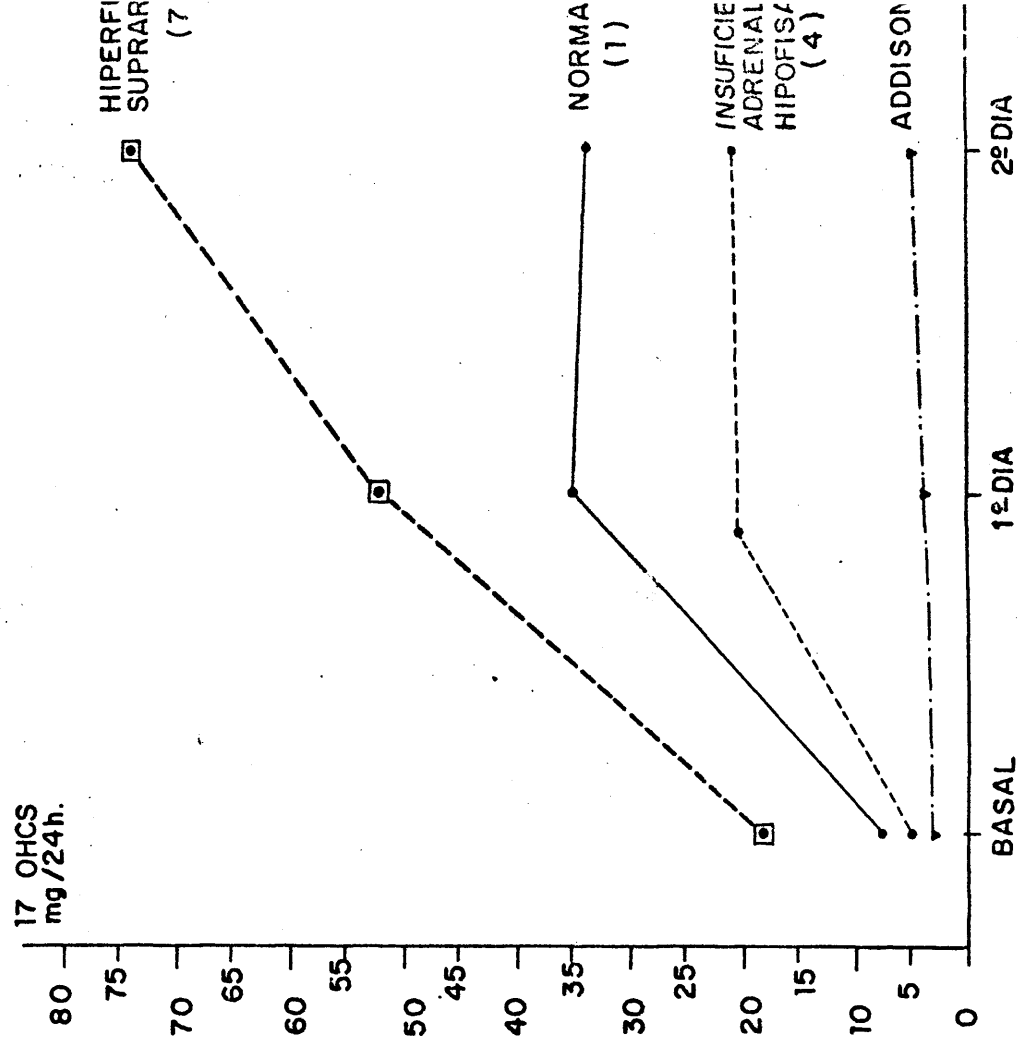
GRAFICA VI-C-3

COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES BASEALES Y DESPUES DEL ESTIMULO CON ACTH DEL CORTISOL PLASMATICO Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES EN ORINA DE 24 HORAS .

VALORES MEDIOS DE LOS GRUPOS REPRESENTATIVOS



ESTIMULO CON ACTH. DIRECTO .



INFUSION DE ACTH DURANTE 8 horas .

3. RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES URINARIOS A LA INFUSION DE ACTH DURANTE 8 HORAS EN DOS DIAS CONSECUTIVOS.

Se han comparado en la tabla VI-C-5 los resultados obtenidos con la infusión intravenosa gota a gota durante 8 horas, de 25 U. de ACTH practicada en días consecutivos, en una serie de 31 sujetos a los que se estudiaba simultáneamente la concentración del cortisol en plasma, y la eliminación de los 17-hidroxycorticoides en orina de 24 horas.

En conjunto se han obtenido unos resultados paralelos en 24 sujetos y divergentes en 7, lo que representa el 77,4 y el 22,5% respectivamente (tabla VI-C-6).

El caso nº 16 corresponde a un Cushing por hiperplasia suprarrenal que respondía excesivamente por la vía de los 17-OHCS urinarios, pero - con respuesta del cortisol plasmático dentro de límites normales; sin embargo no mantenía el ritmo circadiano del cortisol pues la caída nocturna era mínima, del 11%, ya que la concentración plasmática nocturna, (12,8 µg) era similar a la de la mañana (14,4 µg).

Tres de los 4 obesos respondían excesivamente en orina, y de forma normal en plasma. Igual ocurría con una mujer acromegálica (nº 25) y con el caso nº 26, un gigantismo.

El nº 27, con una hepatitis de evolución lenta, tenía una basal baja de 17-OHCS, y el cortisol basal elevado, pero la respuesta al estímulo con ACTH era similar en plasma y en orina. El nº 28 respondía algo excesivamente en plasma, y más bien poco en orina.

Tomando los resultados del 2º día de la infusión de ACTH, y comparando las medias de cada grupo se obtiene la figura VI-C-4, en la que se puede observar que la altura que separa normalmente las columnas del cortisol plasmático y de los 17-OHCS urinarios se atenúa en los obesos y en las acromegalias y se exagera en las hepatopatías.

En general, las concentraciones plasmáticas del cortisol, y la eliminación de los 17-OHCS urinarios marchan paralelas como se puede observar en la figura VI-C-5, conseguida con la media de los resultados basales, del primero y del segundo día de ACTH, de los grupos más representativos.

RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMÁTICO Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES URINARIOS,
A LA INFUSION DE 25 U. DE ACTH DURANTE 8 HORAS.

VALORES INDIVIDUALES

Nº	Edad	Sexo	<u>CORTISOL : µg/100 ml.</u>			<u>17 - OHCS : mg/24 h.</u>			<u>Diagnóstico</u>
			<u>Basal</u>	<u>1er.día</u>	<u>2ºdía</u>	<u>Basal</u>	<u>1er.día</u>	<u>2ºdía</u>	
1	32	V	11,0	35,8	46,8	8,5	25,0	23,4	Normal.
2	44	V	16,7	-	54,7	8,7	42,0	38,7	Normal.
3	28	V	22,5	80,4	68,7	10,3	37,1	40,9	Normal
4	35	M	12,4	58,5	74,3	4,8	30,0	38,4	Normal.
5	53	V	0,0	0,0	0,0	5,2	6,8	7,8	Addison
6	29	V	1,9	0,3	2,9	4,3	5,3	5,1	Addison
7	36	V	0,0	0,7	0,0	0,6	0,0	0,0	Addison
8	31	V	2,2,	3,8	6,3	4,2	2,5	0,0	Addison
9	37	V	1,8	4,0	3,2	0,7	0,0	0,0	Addison
10	15	V	2,9	30,8	41,2	3,8	23,2	45,6	Insuf.Supr.Hipof.
11	6	V	3,9	15,5	22,6	0,0	9,0	15,0	idem.
12	36	V	6,9	32,3	37,9	4,0	9,1	12,8	idem.
13	50	V	3,7	-	25,6	5,0	25,4	21,7	idem.
14	44	M	35,1	146,7	138,5	24,3	50,5	51,1	Hiperplas.nodular
15	16	M	13,5	85,0	102,7	10,4	51,6	62,3	¿Cushing?
16	36	M	14,4	60,6	71,0	15,7	47,4	62,8	Hiperpl.suprarr.
17	30	M	19,1	23,3	37,9	7,6	7,8	12,9	Cáncer operado.
18	36	M	16,8	83,6	91,1	12,6	52,0	50,2	Hiperpl. nodular.
19	44	M	10,7	54,6	58,0	23,7	44,0	51,3	Obesidad.
20	48	M	8,2	44,1	50,8	5,1	17,6	29,5	Obesidad.
21	31	M	11,3	49,4	51,3	10,0	44,7	52,0	Obesidad.
22	17	M	8,1	71,5	73,1	14,3	37,5	50,3	Obesidad.
23	37	V	13,3	54,3	61,8	10,0	27,1	36,3	Acromegalia
24	40	V	25,5	86,5	-	11,4	50,9	62,7	Acromegalia
25	22	M	15,2	49,9	56,2	13,5	36,0	49,4	Acromegalia
26	15	V	9,5	45,2	41,2	13,5	53,1	53,1	Gigantismo

(continuación tabla VI-C-5)

Nº	Edad	Sexo	<u>Cortisol : µg/100 ml.</u>			<u>17 - OHCS : mg/24 h.</u>			<u>Diagnóstico</u>
			<u>Basal</u>	<u>1er.día</u>	<u>2ºdía</u>	<u>Basal</u>	<u>1er.día</u>	<u>2ºdía</u>	
27	54	V	29,4	71,0	75,1	2,8	21,0	25,3	Hepatitis pro- longada.
28	39	V	19,4	80,0	87,4	11,0	21,7	21,0	Hepatofibrosis
29	46	V	8,0	35,3	71,5	8,2	11,1	27,9	Cirrosis.
30	53	M	18,0	-	38,4	7,3	14,5	17,4	Reserv.adrenal disminuida.
31	14	M	24,0	40,6	43,7	7,9	13,1	22,4	Reserva.adrenal disminuida? Melanosis?

==:==:==:==:==:==:==:==:==:==

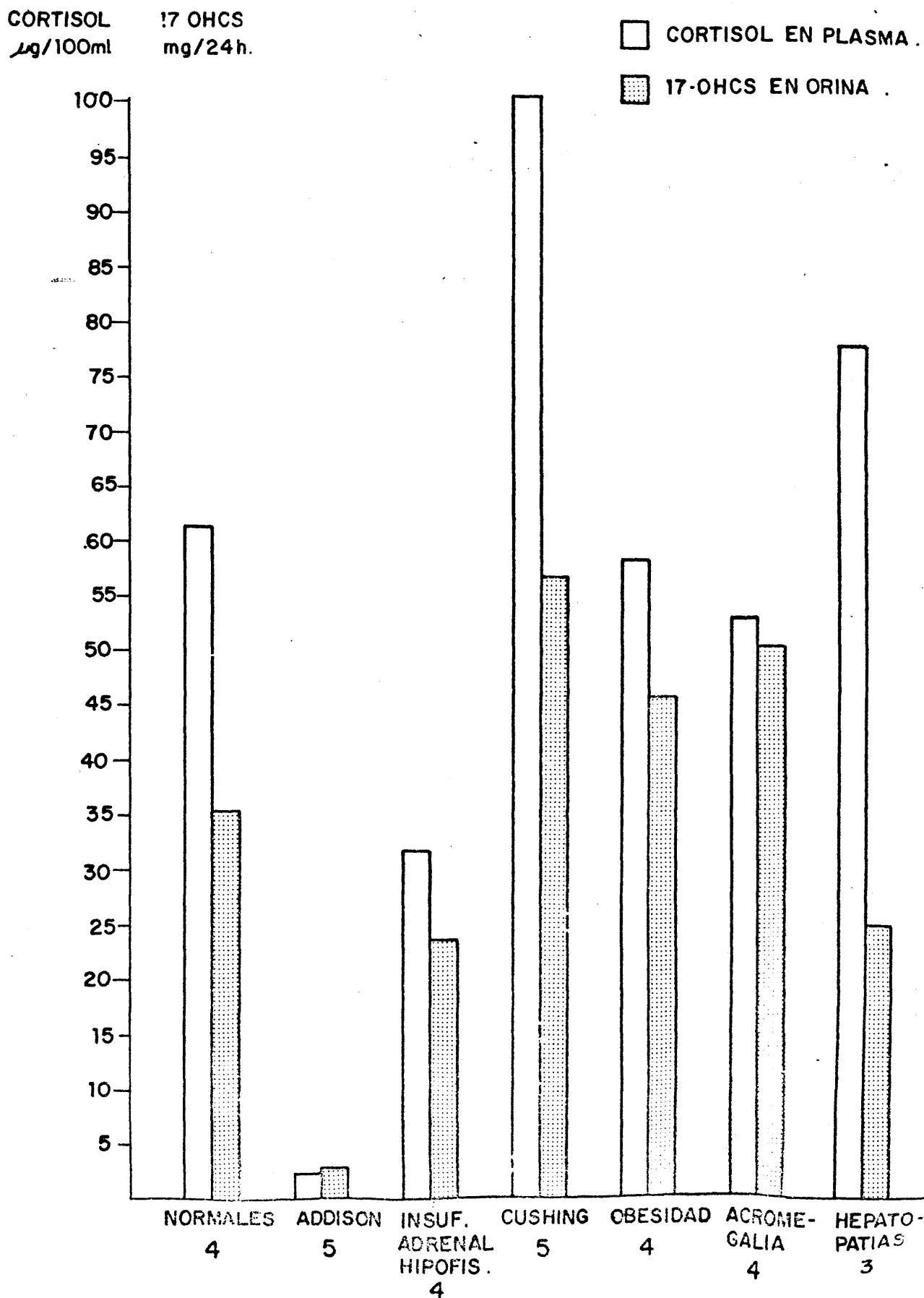
COMPARACION DE LA RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES
A LA INFUSION DE 25 U. DE ACTH DURANTE 8 HORAS.

VALORACION DE CONJUNTO

	<u>Nº de casos</u>	<u>Positiva</u>	<u>Negativa</u>
NORMALES.	4	4	0
ADDISON.	5	5	0
INSUF.ADRENAL.HIPOFISARIA .	4	4	0
HIPERFUNCION SUPRARRENAL .	5	4	1
OBESIDAD.	4	1	3
ACROMEGALIA	4	2	2
HEPATOPATIAS.	3	2	1
RESERVA ADRENAL DISMINUIDA.	2	2	0
<u>TOTAL. . .</u>	<u>31</u> =====	<u>24 = 77,4%</u> =====	<u>7 = 22,5%</u> =====

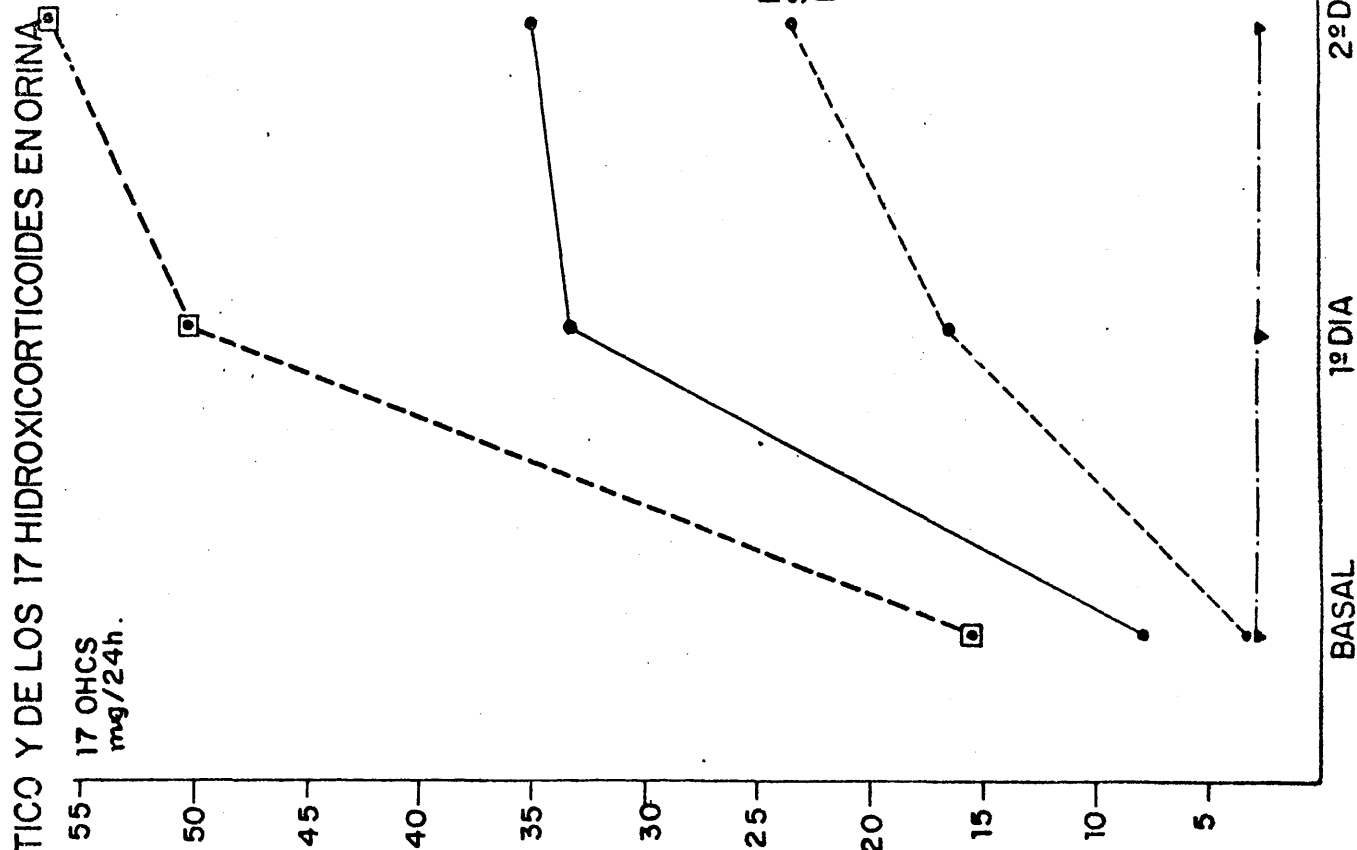
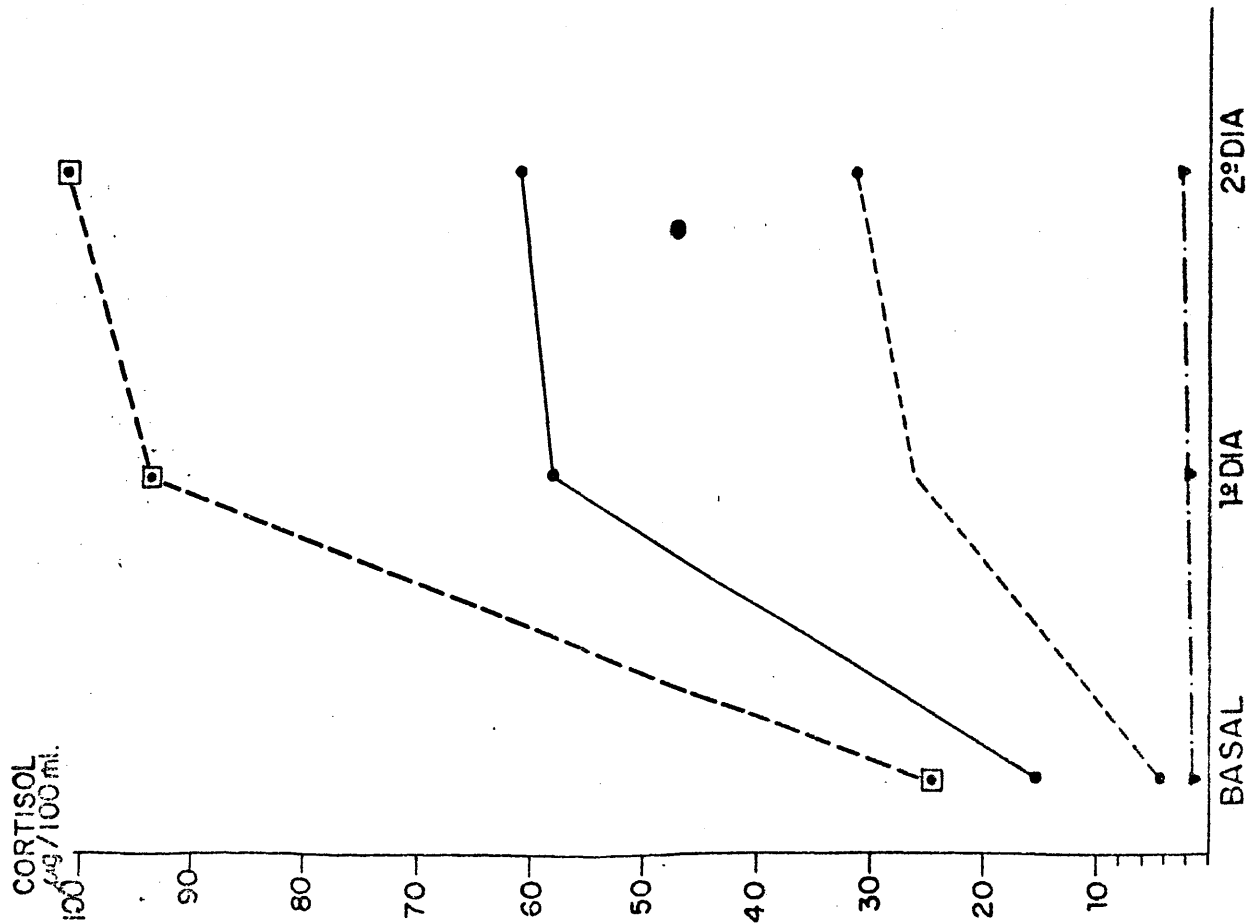
COMPARACION DE LA RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO Y DE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES A LA INFUSION DE 25 U. DE ACTH DURANTE 8 HORAS .

VALORES MEDIOS DEL 2º DIA .



GRAFICA VI-C-5

COMPARACION DE LA RESPUESTA DEL CORTISOL PLASMATICO Y DE LOS 17 HIDROXICORTICOIDES EN ORINA A LA INFUSION DE 25U. DE ACTH. DURANTE 8 HORAS.



4. SUPRESIÓN EN PLASMA Y EN ORINA.

Se han estudiado 13 sujetos en este sentido, encontrando una similitud positiva en 10 casos, negativo en uno (nº 11), y una semejanza parcial en dos (nº 3 y 8).

Además se han considerado cinco pacientes más que por diversas causas estaban en tratamiento con corticoides de forma prolongada, comparando las concentraciones plasmáticas del cortisol con las de los 17-hidrocorticoides en orina de 24 horas, encontrando una similitud positiva en todos ellos.

En la tabla VI-C-7, están recogidos todos estos resultados. En el sujeto nº 11, que consta como no similar, existe una evidente supresión en la prueba de Nugent con el cortisol en plasma, pero en orina no sucedía así aunque el día segundo de Dexametasona, la supresión era más manifiesta.

Los casos nº 3 y 8 respondían parcialmente a la prueba de Nugent, pero los 17-OHCS en orina no se suprimían nada en el nº 3 (adenoma) y lo hacían moderadamente en el nº 8 (Cushing hipofisario).

En general la prueba única con Dexametasona nocturna (Nugent) da unos resultados bastante similares a los obtenidos en orina, tras varios días de supresión, aunque discrepa en uno (nº 11) y parcialmente en otros dos (nºs. 3 y 8).

La prueba de supresión con Dexametasona a dosis de 5mg/día resulta paralela en sangre y orina, en los 7 casos considerados, como también se puede observar en la figura VI-C-6.

5. PRUEBA DE METOPIRONA Y PRUEBA DE LISINA-8-VASOPRESINA.

Se han comparado los resultados obtenidos en plasma con la inyección de L-8-Vasopresina, y los 17-OHCS en orina después de la administración oral de Metopirona.

En total se consideran 9 sujetos cuyos resultados recogidos en la ta

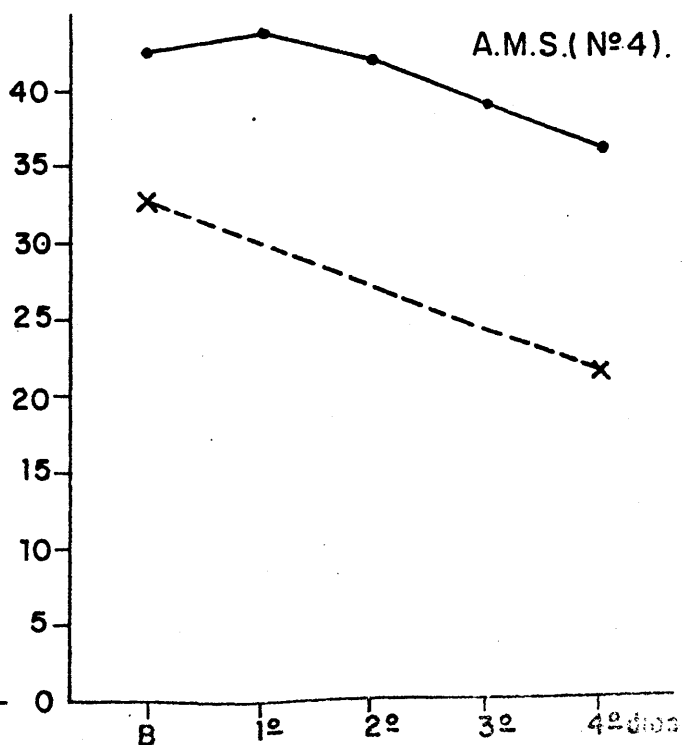
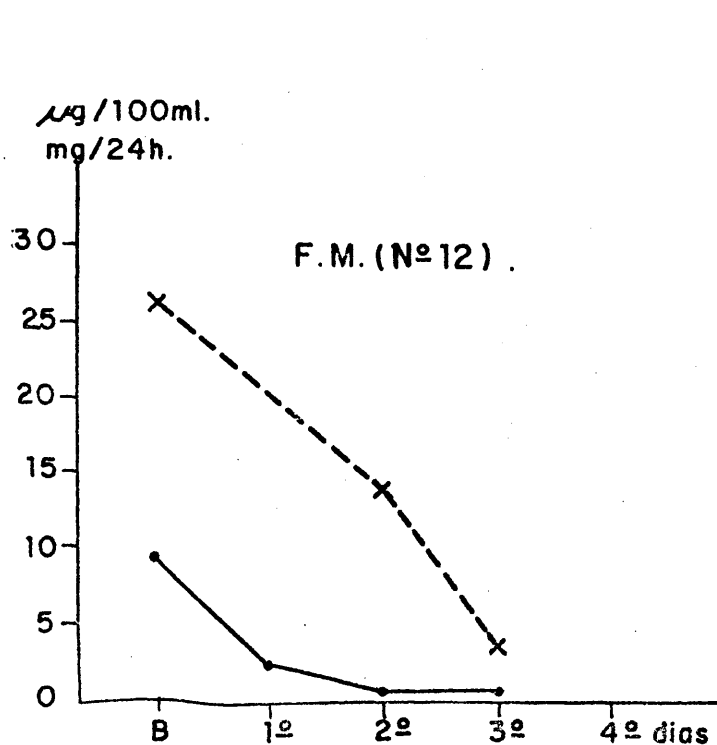
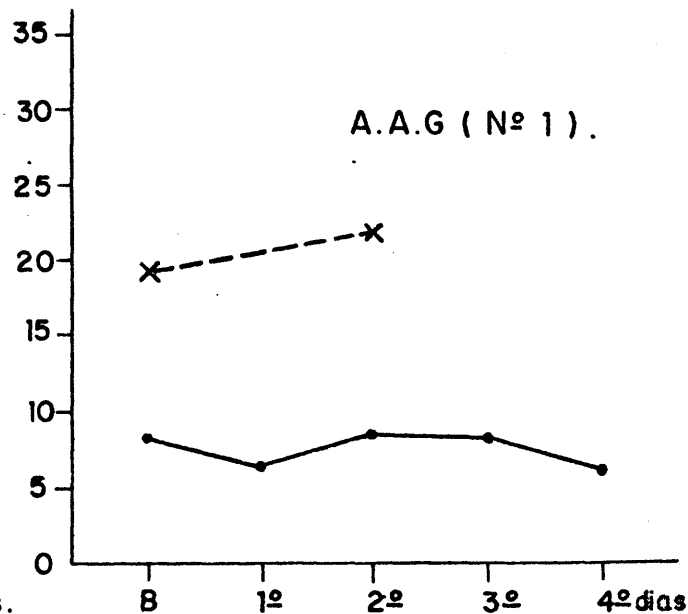
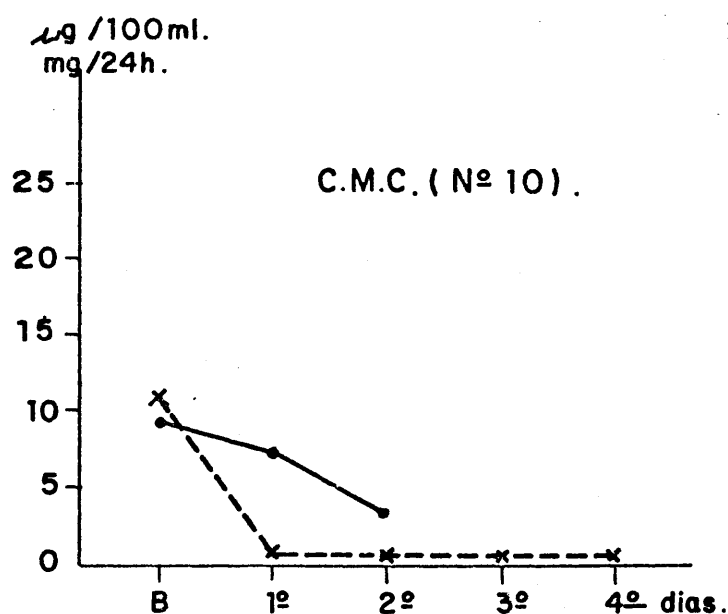
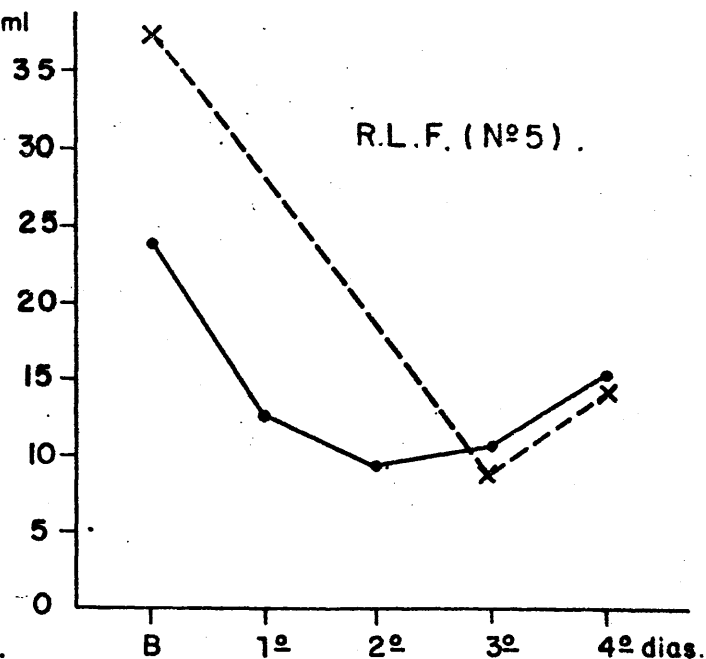
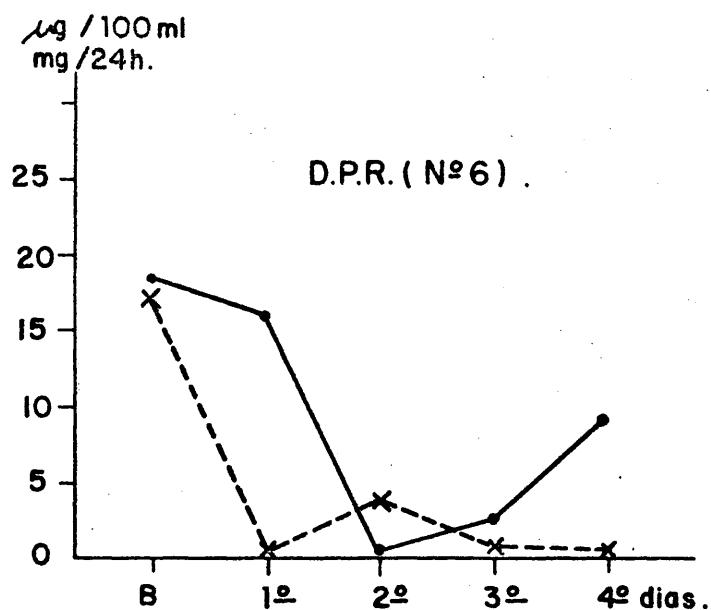
TABLA VI-C-7

COMPARACION DE LA SUPRESION CON DEXAMETASONA EN PLASMA (CORTISOL) Y EN ORINA (17-OHCS)

C O R T I S O L: mg/100 ml										17 - HCS mg/24 h.									
Exo- dad	Basal	Nugent	1a	Dexametasona			Supre sión	-	Basal	Dexametasona			Supre sión	Dimi- litud	Diagnóstico				
				2a	3a	4a				1a	2a	3a				4a			
30	19,1	15,8	-	21,5	-	-	No	8,4	6,3	8,7	8,2	6,7	No	Sí	Cáncer operado				
29	22,5	6,1	-	-	-	-	P	11,2	7,8	9,2	6,5	5,0	P	Sí	Neoplasia				
17	25,0	11,9	-	-	-	-	P	24,9	18,1	34,5	31,3	21,7	No	P	Adenoma dcho.				
37	32,6	37,3	-	-	-	21,3	No	42,5	46,1	42,2	39,0	36,1	No	Sí	Hiperpl.Nod.Aden.I.				
44	37,8	-	-	-	8,1	14,6	P	24,1	12,9	9,9	10,2	15,2	P	Sí	Hiperpl. Nod.				
36	17,7	-	0,0	3,4	0,9	0,0	Sí	18,4	15,9	0,0	2,8	8,7	Sí	Sí	Hiperpl. Nod.				
35	18,6	13,1	-	-	-	-	No	24,0	14,8	11,8	24,7	19,8	No	Sí	Hiperplasia				
39	26,6	13,9	-	-	-	-	P	12,7	9,4	4,4	4,4	-	Sí	P	Cushing hipofisario				
28	25,0	8,8	-	-	-	-	P	15,0	9,0	6,5	6,9	8,2	P	Sí	Cushing(no operado)				
16	13,8	-	0,0	0,0	0,0	0,0	Sí	9,3	7,5	3,4	-	-	Sí	Sí	Cushing?				
17	8,1	0,0	-	-	-	-	Sí	14,5	9,3	4,8	9,7	7,5	P	No	Cushing?				
45	26,3	-	-	14,3	3,9	-	Sí	9,7	2,5	0,0	0,0	-	Sí	Sí	Hiperf. endrogenic				
39	19,4	9,8	9,7	-	-	-	P	11,0	6,5	7,8	6,6	6,0	P	Sí	Hepatofibrosis				
6	0,0	-	-	-	-	-	Sí	0,0	-	-	-	-	Sí	Sí	Tte. con corticoide				
50	3,7	-	-	-	-	-	Sí	3,0	-	-	-	-	Sí	Sí	Tte.con corticoide				
4	2,8	-	-	-	-	-	Sí	0,0	-	-	-	-	Sí	Sí	Tte.con corticoide				
30	2,3	-	-	-	-	-	Sí	3,0	-	-	-	-	Sí	Sí	Tte.con corticoide				
13	2,9	-	-	-	-	-	Sí	3,0	-	-	-	-	Sí	Sí	Tte.con corticoide				

TRACEDA DE SUPRESION CON DEXAMETASOMA 5mg/dia DURANTE 4 DIAS .

—●— 17-OHCS. EN ORINA DE 24 horas .
 --- CORTISOL EN PLASMA $\mu\text{g}/100\text{ml}$



bla VI-C-3, muestran una disparidad en las respuestas de 5 de ellos. - Los dos primeros casos (nº 1 y 2) no respondían a la Lisina-8-Vascoresina de acuerdo con su diagnóstico, pero respondían a la metopirona aunque no de forma muy expresiva.

La paciente nº 5 que respondía bien a la metopirona, no lo hacía - así a la Lisina-8-Vasopresina que solo se efectuó por la mañana y no excluye la posibilidad de una respuesta clara si se hubiera efectuado por la tarde.

En los casos nº 7 y 9, la buena respuesta a la Lisina-8-Vasopresina de acuerdo con el diagnóstico de ambos, no halló correspondencia con los resultados de los 17-OHCS en orina, después de la administración oral de metopirona.

En conjunto, en cuatro de los cinco resultados discrepantes el diagnóstico clínico final apoyaba los resultados de la prueba de Lisina-8-Vasopresina, y solo en uno (nº 5) iba a favor de la metopirona.

TABLA VI-C-8

COMPARACION DE LA PRUEBA DE LISINA-8-VASOPRESINA MIDIENDO CORTISOL EN PLASMA

CON LA DE METOPIRONA MIDIENDO 17-OHCS EN ORINA

<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>CORTISOL EN PLASMA</u>				<u>17-OHCS/24 HORAS.</u>						<u>Respues ta.</u>	<u>Respues ta.</u>	<u>Diagnostico</u>
		<u>Basal</u>	<u>Mañana L-Vasop.</u>	<u>Basal</u>	<u>Tarde L-Vasop.</u>	<u>Basal</u>	<u>Metopirona 1a</u>	<u>2a</u>	<u>1a</u>	<u>2a</u>	<u>Respues ta.</u>			
37	M	4,5	6,8	-	-	6,8	8,8	-	11,6	-	Sí			Sheehan
28	M	5,7	4,5	1,7	4,0	4,6	3,6	-	7,6	-	Sí			Acromegalia operada.
35	M	8,7	10,0	5,1	5,7	5,8	5,5	5,5	5,5	-	No			Suprerenalecto nizada por Cushing Adenoma cromófilo
34	M	5,8	16,4	-	-	8,0	5,1	15,7	8,2	-	Sí			Obesidad.
48	M	5,4	7,6	-	-	10,0	13,9	-	24,0	-	Sí			Obesidad.
28	M	12,5	28,1	-	-	7,5	17,6	-	-	-	Sí			Enanismo. Diabetes insípida.
14	M	18,3	24,1	8,7	25,0	9,0	10,2	-	8,6	-	No			?Turner?
48	M	13,1	18,7	5,0	16,0	6,8	11,2	-	22,1	12,8	Sí			Tumor cerebral y diabetes. insíp.
14	M	24,0	32,7	8,0	27,7	3,5	3,6	-	4,6	-	No			Melanosis.

VII

DISCUSSION

DISCUSION

1 - METODO FLUORIMETRICO EMPLEADO.

El método fluorimétrico que se ha utilizado para las determinaciones del cortisol en plasma es sencillo a pesar de que la extrema simplicidad del de Mattingly (1962) se complique un poco con la evaporación del extracto en diclorometano para que pueda actuar la hidroxilamina (Martin y Martin, 1968).

No es necesario purificar los reactivos empleados si la pureza de los mismos es de garantía, como ya han señalado con anterioridad De Moor y col. (1960). Per sí es imprescindible utilizar material muy limpio y proceder con mucha limpieza a lo largo de la metódica pues cualquier contaminación elevará falsamente los resultados. También es interesante señalar que el reactivo de fluorescencia es conveniente prepararlo poco antes de utilizar lo, pues de lo contrario las lecturas del blanco se elevan.

Las pruebas de recuperación de la hidrocortisona añadida al plasma, han sido generalmente muy buenas, con una media de 103,4% (Tabla IV-1) . De Moor y col. (1960) obtienen un 101,4% y Stewart y col. (1961) un 97% . En general por los métodos fluorimétricos las recuperaciones son muy cercanas o ligeramente superiores al 100%, cosa que no es de extrañar dada la exquisita sensibilidad de la fluorimetría y la simplicidad de los métodos. No ocurre lo mismo con los métodos colorimétricos o fluorimétricos - complicados por pasos cromatográficos intermedios que entrañan una pérdida ostensible a lo largo de la metódica.

La separación del plasma inmediata a la extracción de la muestra de sangre heparinizada que preconizan numerosos autores, aunque aconsejable no es necesaria al menos en las primeras 24 - 30 horas, siempre que se - guarde la sangre en nevera (entre + 2 y + 4° C.), como señalan Wu y Ma- son (1958) y De Moor y col. (1960), y como se ha podido comprobar en este trabajo en algunos casos concretos (Tabla IV-2).

serva válido durante un mes por lo menos (Tabla IV-3), (Lewis, 1957) sin variaciones significativas en la concentración del cortisol ni de la fluorescencia inespecífica.

La forma de agitación es importante. Una agitación fuerte manual extrae más fluorescencia inespecífica pero no más cortisol que si se realiza suavemente por volteo mecánico (Gráfica IV-4). Por ello es preferible la extracción por agitación mecánica.

No es indiferente la elección del tiempo para efectuar la lectura de las muestras. En los primeros minutos la fluorescencia se debe en gran parte a sustancias plasmáticas diferentes del cortisol y corticosterona (Stewart y col. 1961), por lo que no son aconsejables las lecturas antes de los 10 minutos posteriores a la adición del reactivo de fluorescencia. Además en los primeros 30 minutos la fluorescencia de una solución patrón de hidrocortisona y las muestras de plasma ascienden muy rápidamente por lo que siempre hay que leer al mismo tiempo todas las muestras. Si se lee a tiempo fijo entre 13 y 180 minutos, la diferencia de las concentraciones del cortisol en plasma no es muy valorable siempre que se realice la oportuna corrección de la fluorescencia inespecífica del plasma (Tabla IV-4), ya que conforme avanza el tiempo aumenta sus valores proporcionalmente con mucha más rapidez que la fluorescencia específica (cortisol).

De las escasísimas interferencias señaladas para los métodos fluorimétricos (triparanol, espirolactonas, heparina con alcohol bencílico), en dos casos se ha podido comprobar cómo un tratamiento con espirolactonas elevaba el cortisol plasmático 19 y 144 μg , respectivamente, sobre el valor inicial. No se han observado interferencias en los pacientes con colemia elevada, hecho ya señalado por Mattingly (1962), ni en los casos en que la muestra se hemolizaba (Tabla VI-A-18), lo que tiene importancia práctica sobre todo teniendo en cuenta que los hematíes fijan parte del cortisol plasmático (Wu y Mason, 1958; Kornel y col. 1970).

La fluorescencia residual o inespecífica del plasma ya era conocida desde que se emplearon los primeros métodos y oscilaba entre 6 - 9 $\mu\text{g}/100$ ml. (Braunsberg y James, 1961), lo que equivale al 20 - 55% de la fluorescencia del cortisol (James y col. 1967). Stenlake y col. (1970) relacionan

dicha fluorescencia residual con el colesterol del plasma, aunque De - Moor y col. (1960) y Stewart y col. (1961) ya hubieran desechado esa posibilidad.

Muchos autores han ideado diversas formas de reducir esa fluorescencia inespecífica, pero de todas ellas, comentadas en el apartado III de este trabajo, la más idónea parece la de Martin y Martin (1968) basada en la reacción de la hidroxilamina con el cortisol y corticosterona. - Siguiendo ese procedimiento en el presente trabajo se ha medido la fluorescencia inespecífica de 519 plasmas, encontrando una media de $2,6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. También se ha estudiado la influencia de diversas variables sobre la fluorescencia inespecífica del plasma, hallando que es independiente del tipo de prueba realizada y del diagnóstico del paciente (Tablas VI-A-14; VI-A-15 y VI-A-16), pues no varía en las diferentes horas del día, ni con el ACTH, lisina-Vasopresina, ni con la supresión con dexametasona. Tampoco se han visto diferencias de sexo, ni edad, ni que la hemólisis influyera la cuantía de fluorescencia residual del plasma.

2 - SUJETOS NORMALES.

Las personas con una función suprarrenal normal se han caracterizado a lo largo de las pruebas realizadas, por un cortisol basal (8 - 9 h) comprendido entre 5 y $25 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. de plasma (media $15,6 \pm 5,4 \mu\text{g}$) que por la noche descendía a menos de $10,1 \mu\text{g}$ (media $4,5 \pm 3,3 \mu\text{g}$), lo que representa una caída nocturna superior al 50% (media $71,9 \pm 18,3\%$). Con el ACTH sintético, 25 U., en inyección intravenosa directa, el cortisol plasmático oscilaba entre 18,4 y $35,7 \mu\text{g}$ (media $26,3 \pm 5,8 \mu\text{g}$) a la media hora, y entre 22,8 y $52,3 \mu\text{g}$ (media $37,3 \pm 6,1 \mu\text{g}$) a las dos horas, momento en que la respuesta es máxima, lo que representa el doble o triple del valor inicial, Si el estímulo se efectuaba en infusión i.v. de 8 h. con 25 U de ACTH, la subida era mayor, alcanzándose unos valores medios de 54,8 y $58,5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ el primero y segundo días respectivamente.

Con la supresión nocturna de dexametasona, el cortisol matutino del día siguiente ha sido siempre menor de $6,4 \mu\text{g}$, con una media de -

2,7 \pm 1,7 μ g. La respuesta al estímulo con lisina-8-vasopresina es más potente si la prueba se efectúa por la tarde (aumento de 8 a 21 μ g, con media de 13,9 μ g equivalente al 245% del valor inicial) que si se realiza por la mañana (aumenta de 0 a 18 μ g, con media de 8,6 μ g, equivalente al 81% de la basal).

La concentración basal del cortisol es muy similar a la de Mattingly, Vermeulen, De Moor y Steeno, Van der Vies, etc. (Tabla III-1), y en general va de acuerdo con los resultados de los métodos colorimétricos e isotópicos. Pero difieren de los métodos fluorimétricos y colorimétricos que emplean pasos cromatográficos para purificar las muestras, y con lo que se obtienen resultados algo inferiores. También algunos métodos fluorimétricos como el de Martin y Martin (1968), que utiliza muchos pasos intermedios, y algunos isotópicos, dan resultados algo inferiores a los descritos (Tabla III-1).

Por eso, en general, es importante que cada laboratorio establezca sus propios resultados normales que servirán de guía para las comparaciones, pero siempre teniendo en cuenta que si difieren notablemente de lo admitido universalmente, puede existir algún fallo. Así p. ej. un cortisol basal de 20 μ g como media de un grupo extenso de normales, puede indicar defectos en el método, impurezas de reactivos o del material, o en exceso de extracción de fluorógenos plasmáticos distintos del cortisol y corticosterona.

No se han hallado diferencias de edad ni sexo en cuanto al cortisol basal, lo que va de acuerdo con lo descrito en la literatura médica - (Bliss y col. 1953; Lewis, 1957; De Moor y col. 1960; etc.). Pero si una mujer tiene un cortisol elevado, hay que tener en cuenta si está sometida a tratamiento con estrógenos, anovulatorios, o si está embarazada, situaciones todas ellas que elevan la concentración de transcortina plasmática y por consiguiente la del cortisol (Doe y col. 1964).

La determinación del cortisol nocturno tiene mucho más valor que si se realiza a las 4 - 5 de la tarde, como hacen muchos laboratorios, pues la concentración plasmática del cortisol es menor por la noche y su caída es mayor (Gráficas VI-A-3 y VI-A-4), lo que da más margen de diferen-

ciación que si se comparan las concentraciones plasmáticas del cortisol a las 9 y 17 horas.

Los resultados expuestos conseguidos con el estímulo de 25 U. de ACTH natural o sintético, en infusión gota a gota o en inyección i.v. directa, respectivamente, concuerdan en general con las de otros autores (Tabla VII-1).

El goteo durante 8 horas con ACTH, ha sido desplazado totalmente con la inyección i.m. ó i.v. de un ACTH sintético, pues se pueden conseguir los mismos datos y las molestias para el enfermo son mucho menores, así como el tiempo gastado y los gastos de estancia, material y personal.

La respuesta al ACTH sintético es la prueba más rápida y eficaz que se conoce hoy día para descartar una hipofunción suprarrenal prima ría. A pesar de que ya a la 1/2 hora existe una respuesta evidente, el valor obtenido a las 2 horas del estímulo, es mayor, y por tanto de más garantía, lo que va de acuerdo con los trabajos de Downie y col. (1968) aunque estos autores den resultados más elevados, porque parten de base s más altas (24,0 µg). Los resultados de B. y M. Blincher-Toft (1970) son enteramente similares a los expuestos en el presente trabajo (Tabla VII-1). Los primeros en utilizar este tipo de pruebas realizaban la comparación a la 1/2 hora del estímulo (Wood y col. 1965; Greig y col. 1966; Bricaire y col. 1966; Moncloa y col. 1966), pero ese tiempo debe ser cambiado por el de las 2 horas.

Si se emplea la β -1-24 corticotrofina (Synacthen) da lo mismo uti lizar la vía i.m. o i.v. (Downie y col. 1968) aunque siempre hay más seguridad en su manejo por vía i.v. En el caso de utilizar el pentacosa péptido D-W-75, la vía i.v. es obligada pues por vía i.m. se pierde acti vidad (Downie y col. 1968).

Los resultados de la prueba de supresión nocturna con 1 mg de dexa metasona van de acuerdo con los obtenidos por los autores de la prueba (Nugent, Nichols y Tyler, 1965).

TABLA VII - 1

RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON ACTH.

SEGUN DIVERSOS AUTORES. SUJETOS NORMALES.

					<u>Cortisol µg/100 ml.</u>	
<u>A U T O R</u>	<u>U.I.</u>	<u>Tiempo</u>	<u>Método</u>	<u>Nº</u>	<u>Basal</u>	<u>ACTH</u>
A) <u>ACTH EN INFUSION GOTA A GOTA I.V.</u>						
Eik-Nes y col. 1954	25-50	6 h.	color.	39	11,0	40,0
Christy y col. 1955	25	4 h.	color.	11	13,7	44,5
De Moor y col. 1960	25- 50	6-8h.	fluor.	17	21,9	60,0
Migeon y col. 1963	25	6 h.	color.	85	13,0	41,0
Gantt y col. 1964	25	6 h.	fluor.	18	18,7	58,8
Landon y col. 1965	50	5 h.	fluor.	58	12,6	48,1
Este trabajo	25	8 h.	fluor.	5	13,7	58,5

B) SYNACTHEN 0,25 mg (=25 U.I.) i.m. ó i.v. directo

Wood y col. 1965	i.m.	1/2 h.	fluor.	66	14,7	31,4
Greig y col. 1966	i.m.	1/2 h.	fluor.	30	17,4	33,7
Bricaire y col. 1966	i.m.	1/2 h.	fluor.	14	10 a 20	15 a 40
Downie y col. 1968	i.m.	2 h.	fluor.	10	24,4	55,5
Moncloa y col. 1966	i.v.	1/2 h.	fluor.	10	10,0	23,5
Downie y col. 1968	i.v.	2 h.	fluor.	10	24,0	55,6
Blichert-Toft B.yM.1970	i.v.	2 h.	fluor.	10	17,4	37,6
Este trabajo	i.v.	2 h.	fluor.	16	15,3	37,3

=====

La prueba de estimulación con Lisina-8-Vasopresina es frecuentemente mencionada en las publicaciones médicas de los últimos años, pero es menos corriente que esté señalada la hora en que efectúa. A pesar de - que los trabajos de Clayton y col. (1963) especifican con claridad que la respuesta es más potente a primeras horas de la tarde, o incluso por la noche, son mayoría los autores que la siguen realizando por la mañana.

Los resultados obtenidos se pueden comparar con los de otros autores en las tablas VII-2 y VII-3. Aunque la concentración final del cortisol, sea similar por la mañana (22,6 μg) y por la tarde (22,0 μg), el aumento conseguido es significativamente mayor por la tarde (13,9 μg = 245%) que por la mañana (8,6 μg = 81,5%). Además algunos casos individuales que apenas respondían por la mañana, lo hacían perfectamente por la tarde, lo cual da más valor a la elección de la hora.

Desde luego, la prueba provoca efectos secundarios desagradables (palidez, hipermotilidad intestinal, etc.) pero que generalmente se toleran bien. La técnica de Gwinup (1965) con 10 U. en inyección intradeltoides i.m. parece la más aconsejable, con medición de la respuesta a los 60 minutos.

3 - ENFERMEDAD DE ADDISON.

Los 22 pacientes con enfermedad de Addison estudiados, muestran como características típicas unas concentraciones del cortisol plasmático inferiores a 11 μg tanto por la mañana como por la noche, con unas medias de $4,7 \pm 3,6 \mu\text{g}$ y $5,3 \pm 4,3 \mu\text{g}$, respectivamente, lo que indica una falta absoluta de ritmo circadiano fácilmente explicable si se tiene en cuenta que los restos suprarrenales están trabajando al máximo bajo el estímulo intenso del ACTH endógeno.

El solo dato de un cortisol basal disminuido no es patognomónico de enfermedad de Addison, pues hay normales con esas concentraciones y por el contrario addisonianos con cortisol dentro de límites normales.

RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON LISINA-8-VASOPRESINA
SEGUN DIVERSOS AUTORES

(Prueba efectuada entre 9 y 10 H. de la mañana)

A U T O R E S.	Nº	VIA	DOSIS	0 Min.	15 Min	30	60	90	120
Mc Donald y Weise 1965	7	infusión i.v. 2h.	6,8-30U	-	-	-	-	-	+ 15 µg
Landon y col. 1965 (b)	19	infusión i.v. 2h.	6-10 U	13,6	-	-	-	-	+ 13,1
Van der Wal y col. 1965	7	infusión i.v. 1 h.	0,5 Vaño (niños)	8.	-	13	23	-	-
Brostoff y col. 1968	24	infusión i.v.	5 U/h.	10,8	-	17,8	21,6	20,5	19,7
Shenkin y col. 1970	14	infusión i.v. 2 h.	10 U 2 h.	16,3	-	-	-	-	28,3
Clayton y col. 1963	9	i.v. directa	4 U.	15,3	17	18,3	14,2	-	-
Carroll y col. 1969	20	i.v. directa	5 U	16,4	-	-	34	-	-
CZarn y col. 1968	6	i.m.	10 U	10	-	-	20	-	-
Brostoff y col. 1968	57	i.m.	10 U	13,9	-	26,0	-	-	-
Brostoff y col. 1968	23	i.m.	10 U	12,1	-	23,2	26,5	21,6	17,2
Shenkin y col 1970	11	i.m.	10 U	13,4	-	-	30,2	-	-
Brostoff y col. 1968	5	S.C.	10 U	16,4	-	18,6	-	-	-
Este trabajo	12	i.m.	10 U	13,9	-	-	22,6	-	-

[illegible]

RESPUESTA DEL CORTISOL EN PLASMA AL ESTIMULO CON LISINA-8-VASOPRESINA.

SEGUN DIVERSOS AUTORES

(Prueba efectuada a las 5 de la tarde)

AUTORES	Nº	VIA	DOSIS	C o r t i s o l en plasma:						100 ml
				0 Min	15 Min	30	60	90	120	
Strodt y col. 1967	9	infusión 30 min.	0,073 U	9,2	-	29,6	-	-	-	-
Shenkin y col. 1970	14	infusión 2 horas	10 U 2 horas	7,7	-	-	-	-	-	28,1
Clayton y col. 1963	9	i.v. directa	4 U.	8,4	14,3	17,0	-	-	-	-
Librik y Clayton 1963	11	i.v. directa	4 U	6,5	12,4	16,4	14,0	-	-	-
Takebe y col. 1968	6	i.v. directa	4 U	7,2	13,8	15,2	10,2	-	-	-
Gwinup 1965	22	i.m.	10 U	12,5	-	33,0	36,2	-	-	25,0
Tucci y col. 1968	19	i.m.	10 U	-	-	-	+10,8	-	-	-
Brostoff y col 1968	?	i.m.	10 U	-	-	+11,1	-	-	-	-
Este trabajo	11	i.m.	10 U	8,1	-	-	22,0	-	-	-

==:==:==:==:==:==:==:==:==:==

Cifras bajas de cortisol basal se encuentran también en las insuficiencias suprarrenales hipofisarias, en los tratamientos con corticoides, y en ocasiones, en el síndrome de hiperplasia suprarrenal congénita.

Junto a la basal baja y a la ausencia de ritmo circadiano, la insuficiencia suprarrenal primaria se caracteriza por la falta de respuesta al estímulo con ACTH ya sea en perfusión i.v. durante 8 horas, como en inyección i.v. directa, como ha sido señalado por multitud de trabajos (Eik-Nes y col. 1954 y 1955; Christy y col. 1955; Sandberg y col. 1957; Jenkins, 1961; Maynard y col. 1966; Moncloa y col. 1966; Bricaire y col. 1966).

La estimulación con ACTH sintético se ha revelado tan eficaz, mucho más rápida y menos molesta, que las infusiones con ACTH durante 8 horas. La respuesta a las 2 horas tiene más valor que a la 1/2 hora, especialmente para diferenciar la insuficiencia suprarrenal primaria de la hipofisaria (Tabla VI-A-6 y VI-A-8).

La falta de respuesta al estímulo con ACTH es el rasgo más típico y definitivo de la insuficiencia suprarrenal primaria.

En conjunto, las tres características señaladas, basal baja, ausencia de ritmo circadiano y falta de respuesta al ACTH, permiten el diagnóstico de enfermedad de Addison en el 100% de los pacientes seleccionados por su clínica sospechosa.

4. RESERVA ADRENAL DISMINUIDA O INSUFICIENCIA SUPRARRENAL PRIMARIA PARCIAL.

Este concepto similar al de Addison, latente y fase preaddisoniana, - comprende a una serie de pacientes con características incompletas de la enfermedad de Addison, pero con suficientes rasgos de la misma para no ser considerados normales, por lo que ocupan una situación intermedia entre ambos y lo mismo pueden evolucionar a uno y otro lado.

Ya hablaron de ello Marañón y Fernández Noguera, en 1949 y Abu Haydan y col. en 1958, y los textos de Endocrinología mencionan este grupo diagnóstico (Forsham en el libro de Williams, 1968).

Los 8 pacientes estudiados no forman un grupo homogéneo en cuanto a su etiología (Tabla VI-B-11), pues mientras unos eran Addison en potencia, otros habían sido auténticos Addison que llevaban varios años con tratamiento sustitutivo, o poseían una masa adrenal disminuida de origen operatorio.

Estos pacientes se caracterizan por presentar concentraciones de cortisol basal normales ($13,4 \pm 5,2 \mu\text{g}$) con una buena caída nocturna ($78,7 \pm 13,6\%$) lo que indica que en condiciones normales poseen una aceptable función suprarrenal. Pero con el estímulo de ACTH sintético i.v. directo, la respuesta aunque evidente ($24,5 \pm 4,6 \mu\text{g}$ a las 2 horas) es significativamente menor ($p < 0,001$) que en los sujetos normales ($37,3 \pm 6,1 \mu\text{g}$).

5. MELANOSIS NO ADDISONIANAS.

Este grupo formado por 6 pacientes no constituye una entidad clínica determinada. Su rasgo común más característico es la presencia de pigmentación morena cutánea e incluso mucosa que fácilmente sugiere el diagnóstico de enfermedad de Addison. Sin embargo, esa pigmentación tan manifiesta es solo un síntoma que en esos casos no correspondía a la enfermedad de Addison, puesto que la función suprarrenal estudiada clínica y analíticamente era normal.

El interés de formar este grupo, consiste en resaltar la facilidad, seguridad y rapidez con que puede ser excluido el diagnóstico de enfermedad de Addison en los pacientes sospechosos.

El cortisol plasmático en estos pacientes, se caracteriza por presentar una concentración basal normal ($14,0 \pm 5,7 \mu\text{g}$) una buena caída nocturna ($63,3 \pm 9,7\%$) y una excelente respuesta al ACTH sintético en inyección i.v. directa ($28,6 \pm 4,6 \mu\text{g}$ a la 1/2 hora, y $36,2 \pm 9,4 \mu\text{g}$ a las 2 horas). Ello demuestra que se comportan exactamente igual que los sujetos normales, lo cual a pesar de su color y demás síntomas, los hace perfectamente diferenciables de los grupos de enfermos con enfermedad de Addison o con reserva suprarrenal disminuida.

Un ejemplo típico de este grupo fué un paciente varón de 44 años que una vez excluido el diagnóstico de enfermedad de Addison por las pruebas expuestas (nº 5 de la Tabla VI-B-12), fué catalogado como intoxicación - arsenical (Rodríguez Miñón, Arrieta y Herrera, 1970).

6. INSUFICIENCIA SUPRARRENAL HIPOFISARIA.

Los 10 pacientes estudiados que presentaban una insuficiencia suprarrenal secundaria a una hipofunción hipofisaria de etiología diversa, se han caracterizado por concentraciones bajas del cortisol plasmático por la mañana ($2,8 \pm 1,8 \mu\text{g}$) y a la noche ($1,4 \pm 1,6 \mu\text{g}$), pero que responden al estímulo con ACTH sintético i.v. directo ya a la 1/2 hora ($8,8 \pm 6,0 \mu\text{g}$) y con más evidencia a las 2 horas ($16,3 \pm 7,9 \mu\text{g}$) (Tabla VI-B-13). La respuesta al ACTH es mayor si el estímulo se efectúa en infusión i.v. de 8 horas, durante dos días consecutivos (día 1º: $25,4 \mu\text{g}$, y día 2º: $31,8 \mu\text{g}$) (Tabla VI-B-14), lo que pudiera tener interés para ciertos casos con atrofia suprarrenal antigua que no responden al primer estímulo con ACTH (Graber y col. 1965, Landon y col. 1965 a;). Pero en la práctica el despertar de la atrofia adrenal se puede conseguir con inyecciones diarias de ACTH gel (40 U c/12 h) o de Synacthen Depot (1mg/día) durante una semana, con repetición entonces de la prueba rápida con ACTH i.v. directo. Así sucedió en una paciente no considerada en la tabla VI-B-13, que a causa de un tratamiento sustitutivo llevado durante varios años (tenía una enfermedad de Sheehan) mostraba un cortisol basal menor de $2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, y que no subía con el Synacthen, pero que respondió hasta $16,6 \mu\text{g}$ después de un tratamiento con ACTH gel.

Las cifras bajas de cortisol en plasma pueden confundir a estos pacientes con los addisonianos, pero la clínica y la respuesta al ACTH existente en la insuficiencia adrenal de origen hipofisario y ausente en el Addison, los diferencia perfectamente.

El ritmo circadiano es prácticamente imposible de valorar en estos pacientes, a causa de las concentraciones tan bajas del cortisol plasmático. Aunque en conjunto aparentan tener una caída nocturna del 50% (cortisol basal $2,8 \mu\text{g}$ y nocturno de $1,4 \mu\text{g}$), cosa que no sucedía con la enfermedad de Addison.

En cuanto a la prueba de Lisina-8-Vasopresina, los pacientes con insuficiencia suprarrenal hipofisaria se caracterizan por una falta de respuesta típica, además de sus basales bajas, lo cual es un hecho muy demostrativo de esta enfermedad (Gwinup, 1965 a y b; Landon, 1965, b) independientemente de que la Lisina-8-Vasopresina actúe a nivel hipofisario o hipotalámico (Hedge y col. 1966). Ello tiene gran valor clínico, aunque en ocasiones respuestas

negativas a la Lisina-8-Vasopresina sean positivas a los pirógenos (Carroll y col. 1969) e a la neumoencefalografía (Jenkins y Else, 1968).

7. HIPERFUNCION SUPRARRENAL (CUSHING)

El síndrome de hiperfunción suprarrenal posee numerosas variantes dependientes por una parte de la etiología y por otra del tipo de hormonas - segregadas y de su cuantía. No es de extrañar por ello las diferencias individuales existentes aun a pesar de fijar la atención sobre un solo parámetro, el cortisol en plasma.

En condiciones basales existen oscilaciones notables de un día a otro para un mismo individuo.

Aproximadamente el 50% de los pacientes estudiados mostraban concentraciones matutinas del cortisol plasmático dentro de límites normales, por ello la media ha sido de $25,1 \pm 9,3 \mu\text{g}$. Más valorable es el cortisol nocturno (media $19,5 \mu\text{g}$) constantemente superior a $11 \mu\text{g}$, salvo muy escasas excepciones, lo que lleva consigo una alteración del ritmo circadiano caracterizado por una nula o escasa caída nocturna, lo cual es el hecho más característico del síndrome de Cushing, explicable por la secreción continua de CRF y ACTH si la etiología es una hiperplasia suprarrenal (Nugent y col. 1960), por la secreción continua de ACTH ectópico en ciertos tumores, o por la elevada formación y secreción de esteroides corticales en los casos de adenoma o carcinoma suprarrenales.

En los casos estudiados la caída nocturna media ha sido de 25,3% con variaciones entre cero y 32% a excepción de una paciente obesa con diagnóstico dudoso de Cushing, basal normal y caída nocturna del 97,8%, que está sometida a observación, y otra enferma con indudable síndrome de Cushing, con cortisol basal y nocturno elevados ($34,5$ y $13,4 \mu\text{g}$ respectivamente) pero con una caída del 61,5%.

La respuesta al ACTH ha sido generalmente excesiva tanto por vía i.v. directa ($50,8 \pm 16,1 \mu\text{g}$ a la 1/2 hora y $72,1 \pm 25,1 \mu\text{g}$ a las 2 horas) como

en infusión i.v. de 8 horas (primer día 90,1 μ g y 2º día 95,3 μ g) aunque la diferencia haya sido más significativa con el primer método ($p < 0,001$) que por el segundo ($p < 0,0125$) quizá por el mayor número de pacientes estudiados con el ACTH sintético en inyección i.v. directa.

El cortisol después de la supresión nocturna con 1mg. de dexametasona ha sido superior a 13 μ g excepto en dos casos con 6,1 y 8,8 μ g; curiosamente uno de éstos tenía una neoplasia suprarrenal,. Los resultados confirman la importancia de esta prueba para el diagnóstico rápido del síndrome de Cushing (Nugent y col. 1965; Pavlatos y col. 1965; Tucco y col. 1967; McHardy Young y col. 1967, etc.) Por lo general se admite que si después de la supresión nocturna el cortisol es inferior a 6 μ g, prácticamente se puede descartar el síndrome de Cushing; si es superior a 15 μ g es casi seguro su diagnóstico, y si el resultado es intermedio, el paciente debe ser estudiado con otras pruebas antes de confirmar o rechazar el diagnóstico de Cushing.

Con estos datos del cortisol basal y nocturno elevados, ausencia o escasa cuantía de la caída nocturna, respuesta excesiva al ACTH y escasa o nula a la dexametasona, se puede confirmar el diagnóstico de hiperfunción suprarrenal glucocorticoidea (Síndrome de Cushing) en la mayoría de los casos.

Sin embargo hay que tener en cuenta que basales del cortisol elevadas también se pueden observar en sujetos normales sometidos a un stress (Engell y col. 1961), en diabéticos descompensados (Lentle y Thomas, 1964) en pacientes sometidos a tratamientos estrogénicos (Grant y col. 1965) o con espirolactonas (Wood y col. 1965) en algunos hipotiroideos (Martin y col. 1963) y en mujeres embarazadas o en tratamiento con anovulatorios (Gemzell, 1953).

El ritmo circadiano del cortisol también se puede alterar en algunos tumores cerebrales (Krieger y Krieger, 1966), en los estados de inconsciencia (Eik-Nes y Clark, 1958), en enfermedades agudas (Sholiton y col. 1961), en cánceres avanzados y con frecuencia en el cáncer de pulmón (Kawai y col. 1969), con la administración de morfina, atropina, barbitúricos (Krieger y Krieger 1967), heroína (Cushman y col. 1970), hidantoinas (Asflet y Buhl, 1969) o dextroamfetamina (Butler y col. 1968). Puede desaparecer en las depresiones nerviosas (Brooksbank y Cooper, 1967; Conroy y col. 1968; Carroll y col. 1968) y en la

hipertensión vasculo-renal (Cade y col. 1967). En los niños hasta los 3 años de edad, la ausencia de ritmo circadiano del cortisol es un hecho fisiológico frecuente (Franks, 1967); sin embargo los ancianos no pierden la variación circadiana del cortisol (Silverberg y col. 1968). La ausencia de caída nocturna en las hipofunciones suprarrenales primarias o secundarias ocurre con niveles bajos de cortisol plasmático, por lo que es difícil que se puedan confundir con el síndrome de Cushing.

Por otra parte, la prueba de supresión rápida de Nugent, puede fallar en pacientes que toman hidantoinas (Asfelt y Buhl, 1969), en las depresiones intensas (Carroll y col. 1968), en el cáncer de pulmón (Kawai y col. 1969), en la hipertensión vasculo-renal (Cade y col. 1967) y a veces en la anorexia nerviosa o en los tratamientos con anovulatorios (Asfelt, 1969) ó estrógenos.

Pero a pesar de todas esas posibilidades de error, en la práctica clínica es relativamente fácil separar todas esas entidades del síndrome de Cushing.

En cuanto a la diferenciación etiológica del síndrome de Cushing, también se puede conseguir midiendo las concentraciones del cortisol en plasma.

En los casos estudiados, las hiperplasias suprarrenales tienen basales más bajas que el resto de los grupos etiológicos, muestran a veces indicios de caída nocturna, y responden excesivamente al ACTH. Las hiperplasias nodulares adenomatosas muestran basales algo mayores, así como también es mayor la respuesta al ACTH. Un paciente con adenoma tenía un cortisol basal elevado ($32,6 \mu\text{g}$), ausencia de ritmo circadiano (caída nocturna de $1,8\%$) y de supresión con dexametasona, pero respondía excesivamente al ACTH puesto que simultáneamente tenía una hiperplasia nodular adenomatosa bilateral. El comportamiento típico de los carcinomas consiste en basal elevada, ausencia de ritmo y de supresión con dexametasona y falta de respuesta al ACTH, como uno de los Cushing descritos (nº 12); pero existen casos atípicos con respuesta al ACTH (Soffer y col. 1961) como el nº 13 de las Tablas VI-B-17 y VI-B-18, que con basal de $22,5 \mu\text{g}$, a la noche bajaba a $17,5 \mu\text{g}$ (caída nocturna $22,3\%$), descendía a $6,1 \mu\text{g}$ con la prueba de Nugent y subía a $55,0 \mu\text{g}$ a las 2 horas del estímulo

con Synacthen. En el primer caso nº 12, el carcinoma suprarrenal había sido operado y existían metástasis generalizadas, mientras que en el segundo caso citado (nº 13), la clínica era más de virilización que de Cushing, la evolución más corta y la neoplasia estaba más localizada.

La elevación más alta del cortisol, con respuesta nula a todas las pruebas suele suceder en el síndrome de Cushing secundaria a una secreción ectópica de ACTH. El nº 9 de las Tablas VI-B-17 y VI-B-18, poseía un síndrome similar con tales características, aunque su muerte repentina y la falta de estudio anatomopatológico posterior impidieron su confirmación.

Una de las pruebas más útiles para el diagnóstico diferencial de los procesos suprarrenales que cursan con hiperfunción glucocorticoidea, es la estimulación con lisina-8-vasopresina (Bethge y col. 1967 b y 1969), que es sencilla, fácil de realizar y efectiva, siempre que no se pueda medir directamente el ACTH en plasma (Nelson y col. 1966; Landon y Greenwood, 1968). - Los tres casos estudiados en este sentido (Tabla VI-B-21) han confirmado la respuesta clara en la hiperplasia suprarrenal y la ausencia de respuesta en el adenoma y carcinoma adrenales.

8. OBESIDAD:

Los pacientes con obesidad simple poseen una función suprarrenal normal proporcionalmente a su peso (Mlynarik y col. 1962; Copinschi y col. 1966) - aunque aparenten tener una hipersecreción de cortisol (Migeon y col. 1963) y a pesar del aumento en la eliminación de 17-OHCS urinarios en 24 h.

Las posibles confusiones con el síndrome de Cushing desaparecen si en lugar de medir los 17-OHCS urinarios, se mide el cortisol plasmático.

Efectivamente en los casos estudiados tanto el cortisol basal, como el nocturno, el ritmo circadiano, la respuesta a la dexametasona nocturna y al ACTH sintético i.v. directo, han sido indistinguibles de los sujetos normales, lo cual los diferencia sin duda alguna del grupo de pacientes con síndrome de Cushing.

9. HIRSUTISMOS.

El problema del hirsutismo en la mujer es complejo.

La clasificación del hirsutismo en ovárico, suprarrenal o idiopático, tropieza con grandes dificultades en la clínica, que no siempre es posible vencer (Lloyd, 1968) incluso aunque se mida la testosterona en plasma u orina.

La determinación del cortisol en estos casos no pretende ser conclusiva a este respecto, pero sí útil pues ayuda a diagnosticar los hirsutismos suprarrenales ya que así como la mayoría de los Cushing tienen hirsutismo, también la mayoría de los trastornos androgénicos suprarrenales suelen acompañarse de manifestaciones de hiperglucocorticoidismo posibles de conocer mediante la determinación del cortisol plasmático.

Por ello son comprensibles los resultados expuestos en la Tabla VI-B-25 que muestran un cortisol basal y nocturno, un ritmo circadiano y una respuesta al ACTH similares a los de los sujetos normales, puesto que en el grupo de pacientes hirsutas no se han incluido las que tenían una etiología suprarrenal. También se excluyeron aquellas pacientes cuyo cuadro clínico respondía a un trastorno ovárico, aunque es de suponer que en ellas las pruebas que miden el cortisol plasmático también hubieran sido normales, como en algún caso expuesto en el apartado de Misceláneo (nº 16; Tabla, VI-B-32).

10 ACROMEGALIA.

El estudio del cortisol plasmático en la acromegalia suele ser normal. (Roginsky y col. 1966) aunque la producción diaria de cortisol puede estar elevada.

En los pacientes acromegálicos estudiados, la función suprarrenal estimada por el cortisol plasmático y sus pruebas dinámicas no se ha visto influenciada por la propia acromegalia ni por su grado de actividad (estimada por un conjunto de datos) pero sí se alteraba cuando la destrucción hipofisaria de origen terapéutico provocaba una hipofunción suprarrenal secundaria.

Como única anomalía espontánea, se ha observado una disminución de la caída nocturna del cortisol, en dos pacientes, hecho no sorprendente dada la localización hipofisaria del proceso.

Aunque a veces puede fallar la respuesta a la L-vasopresina (Jenkins y Else, 1968) ello no ha ocurrido en los pacientes considerados (Tabla VI-B-28) salvo en un caso que no respondía por la mañana, pero sí lo hacía por la tarde, y en otra paciente que mostraba una manifiesta hipofunción suprarrenal secundaria al tratamiento sometido (hipofisectomía quirúrgica).

11. HIPOTIROIDISMO.

La hipofunción tiroidea influencia el metabolismo periférico del cortisol (Peterson y col. 1955; Yates y col. 1958; Hellman y col. 1961), pero parece que también influye sobre su regulación hipotalámica (Martin y Mintz, 1965) todo lo cual conduce a una cierta hipofunción suprarrenal compensatoria.

A causa del alargamiento de la vida media del cortisol, puede observarse a veces una elevación del cortisol plasmático y una alteración del ritmo por falta de descenso nocturno (Martin y col. 1963) lo que ha ocurrido en algunos de los pacientes estudiados, detalle reflejado en las medias del conjunto (Gráficas VI-A-2 y VI-A-5) e interesante de conocer para el diagnóstico diferencial con el síndrome de Cushing. Incluso alguno de ellos (Tabla VI-B-29) respondía en exceso al ACTH sintético i.v.

12. HEPATOPATIAS.

Cuando existe una afectación funcional hepática la función suprarrenal se regula a un nivel más bajo, pero manteniendo normal la concentración del cortisol en plasma (Peterson, 1960).

La dificultad para el metabolismo del cortisol puede estar reflejada por la escasa caída nocturna observada en algunos de los pacientes estudiados (Tabla VI-B-30).

La adaptación de la función suprarrenal a un nivel inferior explica la escasa respuesta al ACTH sintético en inyección i.v. directa (Tabla VI-B-31).

Los enfermos con hemocromatosis considerados, se comportaban de forma similar a los cirróticos de otra etiología. Quizá sus glándulas suprarrenales no se hallaban afectadas por el depósito de hierro. En uno de ellos la respuesta de la L-Vasopresina era muy buena (nº 6 de la Tabla VI-B-33) indicando la ausencia de efectación hipofisaria).

13. GRUPO MISCELANEO.

En el conjunto de este grupo los resultados no difieren de los normales (Tabla VI-B-32) ya que en su mayoría los pacientes que engloba poseían una función suprarrenal no alterada. Ello prueba la utilidad del análisis del cortisol plasmático para conocer el estado de la función suprarrenal en infinidad de procesos, incluidos niños, estados comatosos, diabetes insípida con grandes diuresis, trastornos psíquicos, etc. Comentarios individuales acerca de algunos de los pacientes en particular, ya se han hecho en el apartado correspondiente a los resultados. Pero se podría llamar la atención - sobre los dos casos de diabetes insípida con buena función suprarrenal incluida la prueba de lisina-vasopresina, lo que confirma que la regulación de la secreción del cortisol es independientemente de la formación o secreción de vasopresina (Mess y Martini, 1968; Cushman, 1968 b).

También merece la pena recalcar la mayor respuesta a la lisina-8-vasopresina cuando la prueba se efectúa a las 5 de la tarde, en lugar de a las 9 de la mañana (Tabla VI-B-33).

14. COMPARACION DEL CORTISOL EN PLASMA CON LOS 17-OHCS URINARIOS

Por lo general la valoración de la función suprarrenal mediante la determinación del cortisol en plasma o de los 17-hidroxicorticoides urinarios transcurre de una forma bastante paralela como se ha podido comprobar a lo largo del apartado VI-C (Gráficas VI-C-1 a VI-C-5).

Las excepciones tanto en relación a las cifras basales, como a las consecutivas al estímulo con ACTH se han observado en varios grupos de pacientes: obesos, acromegálicos, hipotiroideos y con hepatopatía crónica. En los

enfermos obesos y acromegálicos el cortisol en plasma era normal, pero los 17-OHCS estaban generalmente aumentados, hecho atribuible al aumento de masa corporal de los obesos (Mlynarik y col. 1962; Copinschi y col. 1966) y quizá también por la misma causa en los acromegálicos. Los hipotiroideos y pacientes hepáticos se han caracterizado por el contrario, por eliminación disminuida de 17-OHCS urinarios, en comparación con el cortisol en plasma, divergencia que se atribuye a la disminución del metabolismo del cortisol con la consiguiente reducción compensatoria de su producción diaria (Peterson, 1958 y 1960; Kenny y col. 1967; Urquhart y col. 1959). En los hipertiroideos se puede observar el fenómeno opuesto: aumento proporcional de los 17-OHCS urinarios como consecuencia de la corta vida media del cortisol en plasma (Peterson, 1958; Kenny y col. 1967).

Pero existen otras diferencias entre la valoración de la función corticopararrenal por uno u otro sistema.

La función renal puede alterar la cantidad de orina por exceso o por defecto, hasta tal extremo que dificulte la estimación de la concentración de 17-OHCS en relación con la diuresis.

Las diferencias técnicas en cuanto al método son importantes. La metodología en sí no se puede decir que sea mucho más complicada empleando plasma u orina, pero la posibilidad de interferencias medicamentosas es mucho mayor con los métodos urinarios (sedantes, hipnóticos, hipotensores, diuréticos, digitálicos, vit. B₂ y C, morfina, piridinium, piperidina).

Las molestias personales, especialmente si se han de realizar varias determinaciones, son mucho mayores con los métodos urinarios. Hay que recoger toda ("toda") la orina de 24 horas, en nevera, transportarla fría, y esto a veces durante varios días. Por el contrario, esos inconvenientes no existen si se mide el cortisol en plasma; así p. ej. la clásica prueba de Thorn de 6 días de duración (2 basales, 2 días ACTH y 2 días más post-ACTH) se convierte midiendo el cortisol en plasma en una prueba de 2 horas de duración con dos o tres extracciones de sangre; en lo que aun no se ha terminado de recoger la primera diuresis ya se ha realizado la prueba de estimulación en plasma e incluso se pueden conocer los resultados. El paciente necesita estar ingresado para la prueba de Thorn en orina, mientras que las

VENTAJAS DE LA DETERMINACION DEL CORTISOL EN PLASMA
SOBRE LOS 17-HIDROXICORTICOIDES EN LA ORINA DE 24 H.

	<u>CORTISOL EN PLASMA</u>	<u>17-HIDROXICORTICOIDES EN ORINA DE 24 HORAS.</u> -
1.- <u>Discrepancias</u> <u>Diagnósticas</u>		
Obesidad	Normal	Elevados con frecuencia
Hipertiroidismo	Normal	Elevados con frecuencia
Hipotiroidismo	Normal(o elevado)	Disminuidos
Hepatopatías	Normal	Disminuidos
2.- Variaciones extremas de <u>Diuresis</u> (fracaso renal agudo, diabetes insípida, niños, tras- tornos mentales)	No influyen	Sí influyen.
3.- <u>Diferencias técnicas</u>		
Metódica	Simple	Simple
Interferencias) medicamentosas)	-Espirolactonas -Triparanol -Heparina con alcohol bencílico	Sedantes. Hipotensores. Algunos hipnóticos. Los I.M.A.O. Diuréticos. Digitálicos. Morfina. Piridium. Vit. B ₂ y C.-Piperidina
4.- <u>Molestias</u> <u>personales</u>	-Mínimas: varias extrac- ciones de sangre. -No hay necesidad de ingresar.	-Recoger orinas de 24 h. -Guardar en nevera. -Transporte en nevera. -Necesidad de ingreso con frecuencia.
5.- <u>Tiempo empleado</u> P.éj.: estímulo con ACTH	- 2 horas.	- 6 días (4 como mínimo = = 76 horas.).
6.- <u>Datos que aporta</u>	-Concentración en plasma. -Ritmo circadiano. -Prueba de ACTH. -Prueba de supresión. -Prueba de pirógenos. -Prueba de hipoglucemia. -Prueba de L-Vasopresina.	-30 a 50% de los metabo- litos del cortisol. -Prueba de ACTH. -Prueba de supresión. -Prueba de Metopirona.

pruebas dinámicas del cortisol en plasma se pueden hacer todas ambulatoriamente.

Por si fuera poco, la valoración real de la función suprarrenal es más exacta midiendo el cortisol en plasma. Aparte las enfermedades en que existe discrepancia entre el cortisol en plasma y los 17-OHCS urinarios a causa de alteraciones en el metabolismo periférico del cortisol o en el filtro renal, los 17-OHCS urinarios solo miden entre un 30 y un 50% de los metabolitos del cortisol (Peterson y col. 1955; James y Landon, 1968) mientras que el cortisol en plasma da la imagen real del mismo en un momento determinado del día, y además permite la posibilidad de estudiar el ritmo circadiano, y otras pruebas del eje S.N.C.-Hipotálamo-Hipófisis - Suprarrenales (pirógenos, hipoglucemia, 1-vasopresina) no factibles de realizar midiendo los 17-OHCS urinarios.

Todas estas diferencias resumidas en la Tabla VII-4 explican por qué la determinación del cortisol en plasma se ha impuesto en la mayoría de los laboratorios hormonales de las clínicas endocrinológicas, hasta el punto de que poco a poco se vaya abandonando el clásico análisis de los 17-hidroxicorticoides en la orina de 24 horas.

15 COMPARACION DE LAS DIFERENTES PRUEBAS DE ESTIMULACION CON ACTH

El estímulo con ACTH midiendo el cortisol en plasma se puede realizar de formas diferentes como se habló en el apartado II al tratar de las pruebas dinámicas (Tabla II-3).

Hoy día la aparición de ACTH sintéticos con idéntica actividad al ACTH natural pero con la ventaja de conocer exactamente la dosis empleada y de la carencia de reacciones anafilácticas y de intolerancia (Jenny y col. 1963; Landon y col. 1964), está desplazando o ha desplazado ya al ACTH natural - tanto en las pruebas diagnósticas como en terapéutica.

Las vías de administración para las pruebas de estímulo con ACTH sintético pueden ser varias: la infusión intravenosa durante 5 a 8 horas, la vía intramuscular (i.m.) o la intravenosa (i.v.) directa. La perfusión i.v. du-

durante 5 a 8 horas provoca una respuesta algo más elevada que su aplicación i.m. ó i.v. directa, pero prácticamente carece de ventajas sobre ellas y por el contrario es más molesta, dura más y hace necesario el internamiento del paciente (al menos por esas horas).

Por ello, gozan de más aceptación las pruebas que emplean la vía i.m. ó i.v. directa. Pero para que el efecto buscado con el ACTH sintético sea más convincente, la valoración de la respuesta se debe realizar no a la media hora como Wood y col. (1965) y Moncloa y col. (1966), sino a las 2 horas de la inyección del ACTH sintético como demuestran los resultados de Downie y col. (1968), Blincher-Toft, B y M. (1970) y los del presente trabajo (Tablas VI-A-5, VI-A-7, VII-1, y gráfica VI-A-6).

En cuanto al empleo del tetracosapéptido β -1-24 corticotrofina (Synacthen "Ciba") o del pentacosapéptido DW-75 ("Sandoz") los resultados teóricamente deben ser similares, pues aunque tienen algunas características ligeramente diferentes, ambos vienen preparados en ampollas conteniendo cada una el equivalente a 25 U.I. de ACTH, que corresponden a 0,25 mg de Synacthen y a 0,04 mg de DW-75. Para Downie y col. (1968), el efecto máximo en los sujetos normales con ambos ACTH sintéticos se consigue a las 2 horas de la inyección pero es algo mayor con el DW-75 que con el Synacthen, pero no encuentra diferencias entre uno y otro ACTH en pacientes tratados con corticoides.

Los resultados expuestos en el presente trabajo aunque no se han realizado de forma comparativa meticulosa, no van de acuerdo con los de Downie y col. (1968) pues de 105 pruebas de estímulo con ACTH sintético en el total de pacientes considerados 84 se realizaron con Synacthen y 21 con DW-75, - siendo todas ellas similares. Hay que tener en cuenta que los sujetos normales elegidos por Downie y col. (1968) correspondían a pacientes con diversas enfermedades reumáticas, y también que las basales del cortisol en plasma son más elevadas (24 a 27 μ g/100 ml.) de las que generalmente se obtienen con el método que emplean (Mattingly, 1962).

La respuesta al Synacthen es idéntica por vía i.m. ó i.v. directa, pero el DW se debe inyectar i.v. pues por vía i.m. pierde efectividad (Downie y col. 1968).

Los preparados de Synacthen Depot en dosis de 0,5, 1 ó 2 mg, no parecen añadir nada nuevo respecto al Synacthen soluble de 0,25mg, (el mencionado hasta ahora) en cuanto a su empleo en las pruebas diagnósticas . Al ser su estímulo más intenso y sostenido podría establecer más grados de diferenciación en la valoración de la reserva adrenal, pero en todo caso alargaría la prueba pues su efecto máximo ocurre - entre 4 y 8 horas (Tabla II-3).

VIII

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1 - Se ha empleado una modificación del método fluorimétrico de Mattingly (1962), introduciendo un paso para la destrucción del cortisol con hidroxilamina (Martin y Martin, 1968) con el fin de poder eliminar en cada muestra la fluorescencia inespecífica del plasma.

El método es bastante sencillo, preciso, sensible y gana en especificidad con la modificación introducida. Además la posibilidad de interferencias medicamentosas es mínima.

Mide los 11-hidroxycorticoides del plasma o sea fundamentalmente cortisol, pues la corticosterona que también mide se halla normalmente en concentraciones 8 - 10 veces inferiores a la del cortisol.

El cortisol apreciado por este método fluorimétrico es el cortisol libre más el ligado a las proteínas transportadoras.

2 - Personalmente se ha realizado la determinación del cortisol en plasma en más de 1.100 muestras diferentes.

Los resultados se han agrupado por tipo de prueba y por grupos de pacientes.

Las pruebas realizadas han sido: cortisol basal (8 - 9 h.), nocturno (hora 22,30 a 23,30), ritmo circadiano y caída nocturna del cortisol plasmático, estímulo con ACTH sintético en inyección i.v. directa y con ACTH natural en perfusión i.v. de 8 horas, supresión rápida nocturna con dexametasona (prueba de Nugent) y estímulo con lisina-8-vasopresina.

Con cada tipo de determinación se ha hecho un estudio estadístico comparativo entre los diferentes grupos.

También se ha estudiado la fluorescencia inespecífica en 519 plasmas, encontrando una media de 2,6 µg/100 ml y que es independiente del tipo de prueba realizada, del diagnóstico del enfermo, de su sexo y de su edad, sin que le afecte la presencia de hemólisis.

3 - En los sujetos normales el cortisol plasmático basal varía ampliamente entre 5 y 25 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ con una media de $15,6 \pm 5,4\ \mu\text{g}$, pero a la noche desciende siempre a menos de 11,0 μg (media $4,5 \pm 3,3\ \mu\text{g}$), lo que representa una caída nocturna de $71,9 \pm 18,3\%$. Con el ACTH sintético (25 U.) en inyección i.v. directa, el cortisol ascendía a $26,3 \pm 5,8\ \mu\text{g}$ a la media hora, y a $37,3 \pm 6,1\ \mu\text{g}$ a las dos horas, momento del máximo efecto. La perfusión i.v. de ACTH natural (25 U.) durante 8 horas ocasionaba una subida algo mayor (54,8 μg el 1^{er} día, y 58,5 μg el 2^o día) pero no ofrece ventajas significativas sobre la prueba con ACTH sintético en inyección i.v. directa.

Con la prueba de Nugent el cortisol nunca es mayor de 7 μg (media $2,7 \pm 1,7\ \mu\text{g}$). Con el estímulo de 10 U. de lisina-8-vasopresina el aumento es mayor si la prueba se efectúa por la tarde (13,9 μg , equivalente al 245% del valor inicial) que por la mañana (8,6 μg equivalente al 81% del valor inicial).

4 - En la enfermedad de Addison el cortisol plasmático basal está disminuido ($4,7 \pm 3,6\ \mu\text{g}$) y no existe ritmo circadiano (media nocturna $5,3 \pm 4,3\ \mu\text{g}$). También desaparece la respuesta al estímulo con ACTH sintético en inyección i.v. directa, y a la infusión de ACTH durante 8 horas.

5 - En los pacientes con reserva adrenal disminuída la concentración basal del cortisol ($13,4 \pm 5,2\ \mu\text{g}$) y su caída nocturna ($78,7 \pm 13,6\%$) son normales, pero responden menos que los sujetos normales al estímulo con ACTH sintético ($22,5 \pm 4,6\ \mu\text{g}$ a las 2 horas).

6 - En el grupo de pacientes pigmentados pero no a causa de una insuficiencia suprarrenal primaria (Melanosis pseudoaddisonianas), todas las pruebas realizadas son normales, lo que permite diferenciarlos con rapidez de la enfermedad de Addison.

7 - La insuficiencia suprarrenal hipofisaria se caracteriza por un cortisol basal bajo ($2,8 \pm 1,8 \mu\text{g}$) y ausencia de caída nocturna semejante a la enfermedad de Addison, pero existe respuesta al ACTH tanto por inyección i.v. directa ($8,8 \pm 6,0 \mu\text{g}$ a la 1/2 hora y $16,3 \pm 7,9 \mu\text{g}$ a las 2 horas) como en perfusión i.v. de 8 horas (1^{er} día $25,4 \mu\text{g}$, 2º día $31,8 \mu\text{g}$).

No responden a la lisina-8-vasopresina, lo cual es un dato muy típico de la insuficiencia hipofisaria de ACTH.

8 - En el síndrome de Cushing el cortisol basal ($25 \pm 9,3 \mu\text{g}$) y el nocturno están elevados ($19,5 \mu\text{g}$) por lo que apenas existe caída nocturna ($25,3 \mu\text{g}$). La respuesta al ACTH está exagerada tanto empleando la vía i.v. directa ($50,8 \pm 16,1 \mu\text{g}$ a la 1/2 hora y $72,1 \pm 25,1 \mu\text{g}$ a las 2 horas) como en infusión i.v. de 8 horas (primer día $90,1 \mu\text{g}$, 2º día $95,3 \mu\text{g}$). Con la prueba de Nugent el cortisol suele permanecer superior a $13 \mu\text{g}$ salvo excepciones.

Aunque con los datos mencionados se observan diferencias según la etiología del síndrome, p. ej. los carcinomas muestran basales más elevadas y ausencia de respuesta al ACTH, la prueba de lisina-8-vasopresina es más valiosa en ese aspecto, ya que las hiperplasias suprarrenales muestran una buena respuesta y por el contrario no hay aumento del cortisol si es un adenoma o un carcinoma suprarrenal.

9 - En la obesidad simple, el cortisol basal y nocturno, el ritmo circadiano, la respuesta al ACTH y la prueba de Nugent son indistinguibles del grupo de sujetos normales.

Especialmente es llamativa la supresión rápida nocturna con dexametasona para su diferenciación con el síndrome de Cushing.

10 - Los hirsutismos idiomáticos se comportan en todas las pruebas realizadas como los sujetos normales. No en vano se han excluido del grupo de los hirsutismos de origen suprarrenal.

11 - La acromegalia por sí misma no altera las determinaciones del cortisol en plasma. Unicamente se ha visto afectada la función corticosuprarrenal si existía destrucción adenohipofisaria por la terapéutica empleada. Espontaneamente, antes de ningún tratamiento, solo se ha observado algún caso con alteración del ritmo circadiano.

12 - En el hipotiroidismo existe una evidente alteración del metabolismo del cortisol reflejada en sus concentraciones basales y nocturnas, cuya media quedaba intermedia entre los normales y el Cushing.

13 - En los pacientes con hepatopatías crónicas el cortisol basal es normal pero a veces puede fallar la caída nocturna.

La respuesta al ACTH está por debajo de lo normal, semejante a los enfermos con reserva adrenal disminuida.

14 - El grupo misceláneo integra una serie de pacientes no incluidos en los grupos anteriores, algunos con particularidades dignas de mención. En conjunto reflejan la aptitud del cortisol plasmático para valorar la función córtico-suprarrenal en cualquier tipo de enfermedad.

15 - La correspondencia del cortisol en plasma con los 17-hidroxycorticoides urinarios es generalmente similar, pero existe cierta discrepancia en algunos casos. El cortisol plasmático es normal en los obesos y acromegálicos mientras que los 17-OHCS urinarios se elevan. Por el contrario en las hepatopatías e hipotiroidismos disminuyen los 17-OHCS urinarios, pero se mantiene normal o a veces se eleva (hipotiroidismos) el cortisol en plasma.

16 - La valoración de la función córtico-suprarrenal mediante el cortisol plasmático posee notables ventajas frente a los 17-hidroxycorticoides uri-

narios.

No influye la diuresis. Las interferencias medicamentosas son mínimas. Ocasiona muchas menos molestias a los pacientes. Aporta más datos sobre la función suprarrenal (ritmo y ciertas pruebas sobre el eje S.N.C.-Hipófisis-suprarrenales). Y las pruebas dinámicas basadas en él son mucho más rápidas que si se miden los 17-OHCS urinarios.

17 - Resumiendo, la valoración de la función corticosuprarrenal mediante la determinación fluorimétrica del cortisol en plasma es muy útil y eficaz en la clínica endocrinológica.

Su exactitud, la rapidez con que se pueden realizar las pruebas dinámicas, y la escasez de molestias para el paciente, hacen que el cortisol plasmático goce de gran aceptación tanto entre los pacientes como entre los médicos, quienes de esta forma tienen en su manos un instrumento diagnóstico a la altura del momento actual.

IX

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

AARSKOG, D.: Cortisol in the newborn infant. Acta Paediatrica Suppl. vol. 54 :9,1965.

AARSKOG, D.; BLIZZARD, R.M. and MIGEON, C.J.: Response to methopirapone (SU-4885) and pirogen test in idiopathic hypopituitary dwarfism. J. Clin. Endocr. 25:439,1965.

ABU HAYDAR, N.; ST. MARC, J.R.; REDDY, W.J.; LAIDLAW, J.I. and THORN, G.W.: Adrenocortical insufficiency with normal basal levels of urinary 17-hydroxycorticoids: diagnostic implications. J. Clin. Endocr.:18:121,1958.

AHMED, A.B.J.; GEORGE, B.C.; GONZALEZ-AUVERT, C. and DINGMAN, J.F.: Increased plasma arginine vasopressin in clinical adrenocortical insufficiency and its inhibition by glucosteroids. J.Clin.Invest. 46:111,1967.

ARNER, B.; HEDNER, P.; KARLEFORS, T. and RERUP, C.: One-hour subcutaneous - ACTH test with determination of plasma corticosteroids. Acta.Med.Scand. 173: 91,1963.

ASFELDT, V.H.: Corticosteroidogenic effect of long-acting Beta 1-24 corticotrophin (Ciba 42.915 BA). Acta Med. Scand. 184:379,1968.

ASFELDT, V.H.: Simplified dexamethasone suppression test. Acta Endocr. 61: 219,1969.

ASFELDT, V.H. & BUHL, J.: Inhibitory effect of diphenylhydantoin on the - feedback control of corticotrophin release. Acta Endocrinol. 61:551,1969.

BAGDADE, J.D.; PORTE, D.Jr. & BIERMAN, E.L.: Steroid induced lipemia. A - complication of high-dosage corticosteroid therapy. Arch.Int.Med. 125:129, 1970.

BEATO DEL ROSAL, M.: Distribución subcelular, transporte y fijación de $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Cortisol en el hígado de rata. Rev.Iber.Endocr. XVII:109,1970.

BEISEL, W.R.; COS, J.J.; HORTON, R.; CHAO, P.Y. & FORSHAM, P.H.: Physiology of urinary cortisol excretion. J.Clin.Endocr. 24:887,1964 .(a)

BEISEL, W.R.; DIRAIMONDO, V.C. & FORSHAM, P.H.: Cortisol transport and - disappearance. Ann.Int.Med. 60:641,1964 (b).

BERLINER, D.L.: Microdetermination of acetylatable steroids in plasma.Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 94:126,1957.

BERLINER, D.L. & DOUGHERTY, T.F.: Influence of reticuloendothelial and other cells on the metabolic fate of steroids. Ann. N.Y.Acad.Sci, 88: 14,1960.

BESCH, P.K.; BARRY, R.D.; MILLER, R.R. & WATSON, D.J.: In vitro biosynthetic studies of endocrine tumors. III. Cortisol production by testicular tumor. J.Clin.Endocr. 24:1339,1964.

BESSER, G.M.; BUTLER, P.W.P. & PLUMPTON, F.S.: Adrenocorticotrophic action of long-acting tetracosactrin compared with corticotrophin-gel. Brit.Med.J. 4:391,1967.

BESSER, G.M.; BUTLER, P.W.P.; LANDON, J. & REES, L.: Influence of amphetamines on plasma corticosteroid and growth hormone levels in man. Brit.Med.J. 4:528,1969.

BETHGE, H.; NAHMER, D.; und ZIMMERMANN, H.: Der insulinhypoglykämie-test als funktionsprüfung des hypothalamus-hypophysen-nebennierenrinden-systems. I. Bei normalpersonen. Acta. Endocr. 54:668,1967 (a).

BETHGE, H.; IRMSCHER, K.; und ZIMMERMANN, H.: Das verhalten der corticosteroid in plasma während der insulinhypoglykämie und unter lysin-vasopressin als funktionprüfung des hypothalamus-hypophysen-nebennierenrinden-systems. Acta. Endocr. 55:622,1967 (b).

BETHGE, H.; BAYER, J.M. & WINKELMANN, W.: Diagnosis of Cushing's syndrome. The differentiation between adrenocortical hyperplasia and adrenocortical adenoma by means of lysine-vasopressin. Acta Endocr. 60:47,1969.

BETHUNE, J.E.; NELSON, D.H. & THORN, G.W.: Plasma adrenocorticotrophic hormone in addison's disease and its modification by the administration of adrenal steroids. J.Clin.Invest. 36:1701,1957.

BLICHERT-TOFT, B. & BLICHERT-TOFT, M.: Adrenocortical function in the aged, assessed by rapid corticotrophin test (Synacthen). Acta Endocr. 64:410,1970

BLISS, E.L.; SANBERG, A.A.; NELSON, D.H. & EIK-NES, K.: The normal levels of 17-hydroxycorticosteroids in the peripheral blood of man. J.Clin.Invest. 32:818,1953.

BOISSONNAS, R.A.; GUTTMANN, S. & PLESS, J.: Synthesis of D-Ser¹-Nle⁴-(Val-NH₂)²⁵- β -Corticotropin (1-25), a highly potent analogue of ACTH. Experientia. 22:526,1966.

BONDY, P.K. & ALTROCK, J.R.: Estimation of the rate of release of adrenal 17-hydroxycorticosteroid in the human being by the venous catheter technique with a method for determining plasma 17-hydroxycorticosteroids. J.Clin.Invest. 32:703,1953.

BONDY, P.K. & UPTON, G.V.: Simultaneous determination of cortisol and corticosterone in human plasma by quantitative paper chromatography. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 94:585,1957.

BONGIOVANNI, A.M.; EBERLEIN, W.R.; GRUMBACH, M.M.; VANWYK, J.J. & CLAYTON, G.: Conjugates of adrenal corticoids in human plasma. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 87:282,1954.

BORTH, R.; LINDER, A. & RIONDEL, A.: Urinary excretion of 17-hydroxycorticosteroids and 17-ketosteroids in healthy subjects in relation to sex, age, body, weight and height. Acta Endocrinol. 25:33,1957.

BRADLEY, E.M. & WATERHOUSE, C.: Effect of estrogen administration on extravascular cortisol. J. Clin. Endocr. 26:705,1966.

BRAUNSBURG, H. & JAMES, V.H.T.: The determination of adrenocortical steroids in blood. Result in normal individuals and adrenal hyperfunction. J. Endocrin. 21:327,1960.

BRAUNSBURG, H. & JAMES, V.H.T.: The determination of cortisol and corticosterone in blood: A review. J. Clin. Endocr. 21:1146,1961.

BRAUNSBURG, H. & JAMES, V.H.T.: The determination of adrenal cortical steroids in blood, observations on the reliability of a simple fluorometric method for cortisol. J. Endocr. 25:309,1962.

BRICAIRE, H.; MOREAU, L.; LAUDAT, P.; LAUDAT, M.H. et SCHOELLER, J.P.: Une méthode rapide d'exploration dynamique des surrénales: le test à la β 1-24 corticotrophine (Ciba 30 920-Ba). Ann. D'endocr. (Paris). 27:173,1966.

BRICAIRE, H.; LEPRAT, J.; LAUDAT, P.; LUTON, J.P.; MILGROM, E. et LAURENT D. : Un test de freination rapide de l'axe hypophyso-surrénal. (Dose unique de Dexaméthasone). Ann. D'endocr. (Paris). 28:65,1967.

BRINCK-JOHNSSEN, T.; SOLEM, J.H.; BRINCK-JOHNSSEN, K. & INGVALDSEN, P.: The 17-hydroxycorticosteroid response to corticotrophin, metopiron and bacterial pyrogen. Acta Med. Scand. 173:129,1963.

BROOKSBANK, B.W.L. & COOPEN, A.: Plasma 11-hydroxycorticosteroids in affective disorders. Brit. J. Psychiat. 113:395,1967.

BROSTOFF, J.; JAMES, V.H.T. & LANDON, J.: Plasma corticosteroid and growth hormone response to Lysine-Vasopressin in man. J. Clin. Endocr. 28:511,1968.

BROUILLET, J.C. & MATTOX, V.R.: Evidence for the presence of glucuronides of cortisone and cortisol in human urine. J. Clin. Endocr. 26:453,1966.

BROWN, H.; ENGLERT, E. & WALLACH, S.: Metabolism of free and conjugated 17-hydroxycorticosteroids in subjects with thyroid disease. J.Clin.Endocr. 18:167,1958.

BURKE, C.W.: Biologically active cortisol in plasma of oestrogen-treated and normal subjects. Brit. Med. J. 2:798,1969.

BURKE, C.W. & ROULET, F.: Increased exposure of tissues to cortisol in late pregnancy. Brit. Med. J. 1:657,1970.

BUSH, I.E. & SANBERG, A.A.: Adrenocortical hormones in human plasma. J. Biol. Chem. 205:783,1953.

BUTLER, P.W.P.; BESSER, G.M. & STEINBERG, H.: Changes in plasma cortisol induced by dexamphetamine and chlordiazepoxide given alone and in combination in man. J. Endocr. 40:391,1968.

CADE, R.; SHIRES, D.L.; BARROW, M.V. & THOMAS, W.C.: Abnormal diurnal - variation of plasma cortisol in patients with renovascular hypertension. J.Clin.Endocr. 27:800,1967.

CARROLL, B.J.; MARTIN, F.J.R. & DAVIES, B.: Resistance to suppression by dexamethasone of plasma 11-OHCS levels in severe depressive illness. Brit. Med. J. 3:285,1968.

CARROLL, B.J.; PEARSON, M.J. & MARTIN, F.J.R.: Evaluation of three acute test of hypothalamic-pituitary-adrenal function. Metabolism. 18:476,1969 (a).

CARROLL, B.J.: Hypothalamic-pituitary function in depressive illness: - insensitivity to hypoglycaemia. Brit. Med. J. 3:27,1969 (b).

CARROLL, B.J. & DAVIES, B.: Clinical associations of 11-hydroxycorticosteroid suppression and non-suppression in severe depressive illnesses. Brit. Med. J. 1:789,1970.

CLAYTON, G.W.; LIBRIK, L.; GARDNER, R.L. & GUILLEMIN, R.: Studies on the circadian rhythm of pituitary adrenocorticotrophic release in man. J.Clin. Endocr. 23:975,1963.

COHEN, H.: 17-ketogenic steroid excretion in obese children before and after weight reduction. Brit. Med. J. 1:686,1958.

COHEN, M.; STIEFEL, M.; REDDY, W.J. & LAIDLAW, J.C.: The secretion and - disposition of free cortisol during pregnancy. J.Clin.Endocr. 18:1076,1958.

COHN, G.L. & BONDY, P.K.: The isolation, characterization and measurement of steroid glucuronides in human plasma. J. Biol. Chem. 234:31,1959.

- CONROY, R.T.W.L.; HUGHES, B.D. & MILLS, J.N.: Circadian rhythm of plasma 11-hydroxycorticosteroids in psychiatric disorders. *Brit.Med.J.* 3:405,1968.
- COOPER, C.E. & NELSON, D.H.: ACTH levels in plasma in preoperative and - surgically stressed patients. *J.Clin.Invest.* 41:1599,1962.
- COPE, C.L. & BLACK, E.: The behavior of C^{14} - cortisol and estimation of - cortisol production in man. *Clin.Sci.* 17:147,1958 (a).
- COPE, C.L. & BLACK, E.: The production rate of cortisol in man. *Brit.Med. J.* 1:1020,1958 (b).
- COPE, C.L. & BLACK, E.G.: The reliability of some adrenal function test. *Brit. Med.J.* 2:1117,1959.
- COPINSCHI, G.; CORNIL, A.; LECLERCG, R. & FRANCKSON, J.R.M.: Cortisol - secretion rate and urinary corticoid excretion in normal and obese subjects *Acta Endocri.* 51:186,1966.
- CUSHMAN, P.: Hypothalamic-pituitary-adrenal function in thyroid disorders: effects of methopyrone infusion on plasma corticosteroids. *Metabolism.* 17: 263,1968 (a).
- CUSHMAN, P.: ACTH release in response to metyrapone in diabetes insipidus patients. *J.Clin.Endocr.* 28:731,1968 (b).
- CUSHMAN, P.Jr.; BORDIER, B. & HILTON, J.G.: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis in methadone treated heroin addicts. *J.Clin.Endocr.* 30:24,1970.
- CZARNY, D.; JAMES, V.H.T.; LANDON, J. & GREENWOOD, F.C.: Corticosteroid - growth-hormone response to synthetic lysine-vasopressin, natural vasopressin, saline solution and venepuncture. *Lancet* II:126,1968.
- CHRISTY, N.P.; WALLACE, E.Z. & JAILER, J.W.: The effect of intravenously - administered ACTH on plasma 17,21-dihydroxy-20-Ketosteroids in normal - individuals and in patients with disorders of the adrenal cortex. *J.Clin. Invest.* 34:899,1955.
- CHRISTY, N.P.; WALLACE, E.Z.; GORDON, W.E.L. & JAILER, J.W.: On the rate of hydrocortisone clearance from plasma in pregnant women and in patients with Laennec s'cirrhosis. *J.Clin.Invest.* 38:299,1959.
- DAUGHADAY, W.H.: Binding of corticosteroids by plasma proteins. III. The binding of corticosteroid and related hormones by human plasma and plasma protein fractions as measured by equilibrium dialysis. *J.Clin.Invest.* 37: 511,1958.
- DAUGHADAY, W.H. & MARIZ, I.K.: Corticosteroid-binding globulin:its properties and quantitation. *Metabolism.* 10:936,1961.

DE MOOR, P.; STEENO, O.; RASKIN, M. & HENDRIKX, A.: Fluorimetric determination of free plasma 11-hydroxycorticosteroids in man. *Acta Endocrinologica*. 33:297,1960

DE MOOR, P. & STEENO, O.: Comparison of three techniques for the fluorimetric determination of plasma corticosteroids. *J. Endocrin.* 28:59,1963.

DE MOOR, P.; ROELS, H.; DELAERE, K. & CRABBE, J.: Unusual case of adrenocortical hyperfunction. *J.Clin.Endocr.* 25:612,1965 (a).

DE MOOR, P.; STEENO, O. & HENDRIKX, A.: Clinical features observed in patients with an unexplained low cortisol binding capacity. *Acta Endocrinologica*, 48: 272, 1965. (b).

DIRAIMONDO, V.C. & FORSHAM, P.H.: Pharmacophysiologic principles in the use of corticoids and adrenocorticotropin. *Metabolism*. 7:5,1958.

DOE, R.P.; FLINK, E.B. & GOODSELL, M.G.: Relationship of diurnal variation in 17-hydroxycorticosteroid levels in blood and urine to eosinophils and electrolyte excretion. *J.Clin.Endocr.* 16:196,1956.

DOE, R.P.; VENNES, J.A. & FLINK, E.B.: Diurnal variation of 17-hydroxycorticosteroids, sodium, potassium, magnesium and creatinine in normal subjects and in cases of treated adrenal insufficiency and Cushing's syndrome.. *J. Clin. Endocr.* 20:253,1960 (a).

DOE, R.P.; ZINNEMAN, H.H.; FLINK, E.B. & ULSTROM, R.A.: Significance of the concentration of nonprotein-bound plasma cortisol in normal subjects, - Cushing's syndrome, pregnancy, and during estrogen therapy. *J.Clin.Endocr.* 20:1484,1960 (b).

DOE, R.P.; FERNANDEZ, R. & SEAL, U.S.: Measurement of corticosteroid-binding globulin in man. *J.Clin.Endocr.* 24:1029,1964.

DOE, R.P.; LOHRENZ, F.N. & SEAL, U.S.: Familial decrease in corticosteroid binding globulin. *Metabolism*. 14:940,1965.

DOE, R.P.; DICKINSON, P.; ZINNEMAN, H.H. & SEAL, U.S.: Elevated nonprotein bound cortisol (N P C) in pregnancy during estrogen administration and in carcinoma of the prostate. *J.Clin.Endocr.* 29:757,1969.

DONE, A.K.; ELY, R.S. & KELLEY, V.C.: Salicylates and the pituitary adrenal system. *Metabolism*. 7:52,1958.

DOUGHERTY, T.F.; BERLINER, D.L. & BERLINER, M.L.: Corticosteroid-tissue interactions. *Metabolism*. 10:966,1961.

DOWNIE, W.W.; WHALEY, K.; WRIGHT, M.A.; BELL, M.A. & TAYLOR, A.K.: Comparison of the adrenocorticotrophic activities of two synthetic polipeptides: Synacthen and DW-75. *Brit.Med.J.* 4:487,1968.

DYRENFURTH, I.; BLAIR, A.J.; BECK, J.C. & VENNING, E.H.: Studies in patients with adrenocortical hyperfunction I. The effect of corticotropin on levels of corticosteroids, 17-ketosteroids and aldosterone. J.Clin.Endocr. 20:735 1960.

EIK-NES, K.; SANDBERG, A.A.; NELSON, D.H.; TAYLER, F.H. & SAMUELS, L.T.: Changes in plasma levels of 17-hydroxycorticosteroids during the intravenous administration of ACTH. I. A test of adrenocortical capacity in the human. J.Clin.Invest. 23:1502,1954.

EIK-NES, K.; SANDBERG, A.A.; MIGEON, C.J.; TYLER, F.H. & SAMUELS, L.T.: Changes in plasma levels of 17-hydroxycorticosteroids during the intravenous administration of ACTH II. Response under various clinical conditions. J.Clin.Endocr. 15:13,1955.

EIK-NES, K.: Determination of 17,21-dihydroxy-20-Ketosteroids in blood plasma. J.Clin.Endocr. 17:502,1957.

EIK-NES, K. & CLARK, L.D.: Diurnal variation of plasma 17-hydroxycorticosteroids in subjects suffering from severe brain damage. J.Clin.Endocr. 18: 764,1958.

EKMAN, H.; HAKANSSON, B.; MCCARTHY, J.D.; LEHMANN, J. & SJOGREN, B.: Plasma 17-hydroxycorticosteroids in Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr. 21:684,1961

EL-SHABOURY, A.H.: Assessment of long-acting synthetic corticotrophin in hypersensitive asthmatics and normal subjects. Brit. Med. J. 3:653,1968.

ELY, R.S.; HUGHES, E.R. & KELLEY, V.C.: Studies of adrenal corticosteroids I. Estimation of plasma corticosterone and cortisol. J.Clin.Endocr. 18:190 1958.

ENGEL, F.L. & FREDERICKS, J.: Contribution to understanding of mechanism of permissive action of corticoids. Proc.Soc.Exp.Biol. & Med. 94:593,1957.

ENGEL, F.L.; McPHERSON, H.T.; FETTER, B.F.; BAGGET, B.; ENGEL, L.L.; CARTER, P.; FIELDING, L.L.; SAVARD, K.; & DORFMAN, R.I.: Clinical morphological and biochemical studies on a malignant testicular tumor. J.Clin.Endocr. 24: 528,1964.

ENGELL, H.C.; WINKLER, K.; TYGSTROP, N. & BUUS, O.: Hepatic uptake of - cortisol during surgical operations. Ann. Surg. 154:269,1961.

FAJANS, S.S.: Some metabolic actions of corticosteroids. Metabolism. 10: 951, 1961.

FARMER, T.A.; HILL, S.R.; PITTMAN, J.A. & HEROD, J.W.: The plasma 17- - hydroxycorticosteroid response to corticotropin, SU-4885 and lipopolysaccharide pyrogen. J.Clin.Endocr. 21:433,1961.

FORSHAM, P.H.: The adrenal cortex. Cap. 5 del "Textbook of Endocrinology" de Williams, 4^a ed., 1968.

FRANKS; R.C.: Diurnal variation of plasma 17-hydroxycorticosteroids in children. J.Clin.Endocr. 27:75,1967.

FRANKSSON, C. & GEMZELL, C.A.: Blood levels of 17-hydroxycorticosteroids in surgery and allied conditions. Acta. Chir. Scandinav. 106:24,1953.

FRASER;R. & JAMES, V.H.T.: Double isotope assay of aldosterone, corticosterone and cortisol in human peripheral plasma. J. Endocr. 40:59,1968.

FROHMAN, L.A.; HORTON. E.S. & LEBOVITZ, H.E.: Growth hormone releasing action of a pseudomonas endotoxin (Pirumen). Metabolism. 16:57,1967.

FUKUSHIMA, D.K.; BRADLOW, H.L.; HELLMAN, L. & GALLAGHER, T.F.: On cortisol production rate. J.Clin.Endocr. 28:1618,1968.

FUKUSHIMA, D.K.; BRADLOW, H.L.; HELLMAN, L. & GALLAGHER, T.F.: Further studies of cortisol production rate. J.Clin.Endocr. 29:1042,1969.

FÜRST, E.: On chromophobe pituitary adenoma. A review of 131 cases. Acta Med. Scand. 180. Suppl. 452.1966.

GANTT, C.L. ; MAYNARD, D.E. & HAMWI, G.G.: Experience with a simple procedure for the determination of plasma and urine free 11-hydroxycorticosteroids Metabolism. 13:1327,1964

GARCES, L.Y.; KENNY, F.M.; DRASH , A. & TAYLOR, F.H.: Cortisol secretion rate during fasting of obese adolescent subjects. J.Clin.Endocr. 28:1843, 1968.

GASTINEAU, C.F.; MYERS, W.R.; ARNOLD, J.W. & CONAHEY, W.N.: Thyroid disorders in Addison's disease - Graves' disease. Proc.Mayo.Clin. 39:939,1964.

GEMZELL, C.A.: Blood levels of 17-hydroxycorticosteroids in normal pregnancy. J.Clin.Endocr. 13:898,1953.

GILBOA, Y; BER, A. & WINKELSBERG, G,: Report of a new long-acting (Zn) - synthetic ACTH (Ciba 36716 Ba-24 corticotrophin) on adrenal secretion in human subjets. J.Clin. Endocr. 26:666,1966.

GOGATE, A.N. & PRUNTY, F.T.G.: Adrenal cortical function in "Obesity with pink striae" in the young adult. J.Clin.Endocr. 23:747,1963.

GOLD, E.M.; DiRAIMONDO. V.C. & FORSHAM, P.H.: Quantitation of pituitary corticotropin reserve in man by use of an adrenocortical 11-beta hydroxylase inhibitor (SU-4885). Metabolism. 9:3,1960 (a).

GOLD, E.M.; SERENA, B. & COOK, S.: The combined estimation of cortisol and 11-desoxycortisol in plasma as Porter-Silber chromogens. J.Clin. Endocr. 20:315,1960 (b).

GOLD, E.M.; KENT, J.R. & FORSHAM, P.H.: Clinical use of a new diagnostic agent, methopyrapone (SU-4885) in pituitary and adrenocortical disorders Ann.Int.Med. 54:175,1961.

GRABER, A.L.; NEY, R.L.; NICHOLSON, W.E.; ISLAND, D.P. & LIDDLE, G.W.: Natural history of pituitary-adrenal recovery following long-term suppression with corticosteroids. J.Clin.Endocr. 25:11,1965 (a).

GRABER, A.L.; GIVENS, J.R.; NICHOLSON, W.E.; ISLAND, D.P. & LIDDLE, G.W.: Persistence of diurnal rhythmicity in plasma ACTH concentration in cortisol deficient patients. J.Clin.Endocr. 25:804,1965 (b).

GRANT, J.K.: The biosynthesis of adrenocortical steroids. J.Endocr. 41:111, 1968.

GRANT, S.D.; PAVLATOS, F.CH. & FORSHAM, P.H.: Effects of estrogen therapy on cortisol metabolism. J.Clin.Endocr. 25:1057,1965

GREENWOOD, F.C. LANDON, J. & STAMP, T.C.B.: The plasma sugar, free fatty acid, cortisol and growth hormone response to insulin. I. In control subjects. J.Clin.Invest. 45:429,1966.

GREIG, W.R.; BROWNING, M.C.K.; BOYLE, J.A. & MAXWELL, J.D.: Effect of the synthetic polypeptide β 1-24 (Synacthen) on adrenocortical function. J. Endocrin. 34:411,1966.

GRIFFITHS, K.; GRANT, J.K. & SYMINGTON, T.: A biochemical investigation of the functional zonation of the adrenal cortex in man. J.Clin.Endocr. 23:776,1963.

GWINUP, G.: Studies on the mechanism of vasopressin induced steroid secretion in man. Metabolism. 14:1282, 1965 (a).

GWINUP, G.: Test for pituitary function using vasopressin. Lancet II:572, 1965 (b).

GWINUP, G.; STEINBERG, T; KING, C.G. & VERNIKOS-DANELIS, J.: Vasopressin induced ACTH secretion in man. J.Clin.Endocr. 27:927,1967.

HALBERG, F.; PETERSON, R.E. & SILBER, R.H.: Phase relations of 24-hour periodicities in blood corticosterone metabolites in cortical adrenal parenchyma, and total body activity. Endocrinology, 64:222,1959.

HAMWI, G.J.; GWINUP, G.; MOSTOW, J.H. & BESCH, P.K.: Activation of testicular adrenal rest tissue by prolonged excessive ACTE production. J. Clin. Endocri. 23:861,1963.

HAUGEN, H.N.: The adrenocorticotrophic effect of D-serine¹-norleucine⁴-valinamide²⁵- β -1-25-corticotropin (DW 75). A comparison with genuine ACTH. Acta Med. Scand. 186: 173, 1969.

HAVARD, C.W.H.; SALDANHA, V.F.; BIRD, R. & GARDNER, R.: Adrenal function in hypothyroidism. Brit. Med. J. 1:337,1970.

HEDGE, G.A.; YATES, M.B.; MARCUS, R. & YATES, F.E.: Site of action of - vasopressin in causing corticotropin release. Endocrinology. 79:328,1966.

HELLMAN, L.; BRADLOW, H.L.; ZUMOFF, B.; & GALLAGHER, T.F.: The influence of thyroid hormone on hydrocortisone production and metabolism. J. Clin. Endocr. 21: 1231,1961.

HELLMAN, L.; NAKADA, F.; CURTI, J.; WEITZMAN, E.D.; KREAM, J.; ROFFWARG, H.; ELLMAN, S.; FUKUSHIMA, D.K. & GALLAGHER, T.F.: Cortisol is secreted episodically by normal man. J. Clin. Endocr. 30:411,1970 (a).

HELLMAN, L.; WEITZMAN, E.D.; ROFFWARG, H.; FUKUSHIMA, D.K.; YOSHIDA, K.; & GALLAGHER, T.F.: Cortisol is secreted episodically in Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr. 30:686, 1970 (b)

HENKE, W.J.; DOE, R.P. & JACOBSON, M.E.: A test of pituitary reserve utilizing intravenous SU-4885, with a new method for extraction of 11-desoxycorticosteroids. J.Clin.Endocr. 20:1527,1960.

HILLMAN, D.A. & GIROUD, J.P.: Plasma cortisone and cortisol levels at birth and during the neonatal period. J.Clin.Endocr. 25:243,1965.

HOUSSAY, B.A.: Fisiología humana. Cap. LIV. Suprarrenales. 3ª ed. 2ª reimpr. 1957.

INGLE, D.J.: Permissive action of hormones. J.Clin.Endocr. 14:1272,1954.

ITURZAETA, N.F.; HILLMAN, D.A. & COLLE, E.: Measurement of plasma cortisol in children and adults: a comparison of the double isotope derivative assay, competitive protein-binding analysis and the modified competitive protein-binding analysis. J.Clin.Endocr. 30:185,1970.

JACKSON, I.M.D. & MOWAT, J.I.: Hypothalamic-pituitary-adrenal function in obesity and the cortisol secretion rate following prolonged starvation. Acta Endocr. 63:415,1970.

JAMES, V.H.T.; LANDON, J. & WYNN, V.: Oral and intravenous suppression tests in the diagnosis of Cushing's syndrome. J.Endocrin. 33:515,1965

JAMES, V.H.T.; TOWNSEND, J. & FRASER, R.: Comparison of fluorimetric and isotopic procedures for the determination of plasma cortisol. J.Endocr. 37: XXVIII, 1967.

JAMES, V.H.T. & LANDON, J.: Control of corticosteroid secretion. Current views and methods of assessment. En el libro de V.H.T. James: "Recent advances in endocrinology" 8^a ed. London. 1968.

JENKINS, J.S.: The effect of corticotrophin zinc on plasma 17-hydroxycorticoids as a test of adrenal cortical function. J.Clin.Pat.14:185,1961.

JENKINS, J.S. & ELKINGTON, S.G.: Metirapone and pyrogen in the assessment of pituitary adrenal function after removal of pituitary adenoma. Lancet. 2: 991,1964.

JENKINS, J.S. & ELSE, W.: Pituitary-adrenal function tests in patients with untreated pituitary tumours. Lancet II:940,1968.

JENKINS, J.S.; BUCKELL, M.; CARTER, A.B.; & WESTLAKE, S.: Hypothalamic-pituitary adrenal function after subarachnoid haemorrhage. Brit.Med.J. 4:707,1969.

JENNY, M.; MULLER, A.F. et MACH, R.S.: Effects cliniques et métaboliques d'un nouveau polypeptide à action adrénocorticotrope (tetracosapeptide). Schweiz. Med. Wsch. 93:766,1963.

JENSEN, H.K.; & BLICHERT-TOFT, M.: Pituitary-adrenal function in old age evaluated by the intravenous metirapone test. Acta.Endocr. 64:431,1970.

JUBIZ, W.; MEIKLE, A.W.; WEST, CH. D. & TYLER, F.H.: Single-Dose Metirapone test. Arch. Int. Med. 125:472,1970 (a).

JUBIZ, W.; MATSUKURA, S.; MEIKLE, A.W.; HARADA, G.; WEST, O.D. & TYLER, F.H.: Plasma metirapone, adrenocorticotrophic hormone cortisol, and deoxycortisol levels. Sequential changes during oral and intravenous metirapone administration. Arch. Int. Med. 125:468,1970 (b).

KALANT, H.: Chromogenic and fluorogenic reactions of adrenocortical and other steroids in concentrated acids. Biochem. J. 69:79,1958.

KAPLAN, N.M.: Assessment of pituitary ACTH secretory capacity with metopirone: I, Interpretation. J.Clin.Endocr. 23:945,1963 (a).

KAPLAN, N.M.: Assessment of pituitary ACTH secretory capacity with metopirone: II. Comparison with other tests. J.Clin.Endocr. 23:953,1963 (b).

KAWAI, A.; TAMURA, M.; TANIMOTO, S.; HONMA, H. & KUZUYA, N.: Studies on adrenal cortical function in patients with lung cancer. Metabolism.18:609, 1969.

- KENDALL, J.W.; EGANS, M.L. & STOTT, A.K.: Fluorimetric determination of corticosteroids: an interfering substance in impure dichloromethane which fluoresces with benzyl alcohol preservative in heparine. J.Clin.Endocr. 28:1373,1968.
- KENNY, F.M.; MALVAUX, P. & MIGEON, C.J.: Cortisol production rate in newborn babies, older infants and children. Pediatrics. 31:360,1963.
- KENNY, F.M.; PREEYASOMBAT, C. & MIGEON, C.J.: Cortisol production rate.II. Normal infants, children and adults. Pediatrics. 37:34,1966.
- KENNY, F.M.; ITURZAETA, N.; PREEYASOMBAT, L.; TAYLOR, F.H. & MIGEON, C.J.: Cortisol production rate VII. Hypothyroidism and hyperthyroidism in infants and children. J.Clin.Endocr. 27:1616,1967.
- KIMBALL, H.R.; LIPSETT, M.B.; ODELL, W.D. & WOLFF, S.M.: Comparison of the effect of the pyrogens, etiocholanolone and bacterial endotoxin on plasma cortisol and growth hormone in man. J.Clin.Endocr. 28:337,1968.
- KISSIN, B.; SCHENKER, V. & SCHENKER, A.C.: Adrenal cortical function and liver disease in alcoholics. Am.J.Med.Sci. 238:344,1959.
- KLEIN, R.; FORTUNATO, J. & PAPADATOS, C.: Free blood corticoids in the newborn infant. J.Clin.Invest. 33:35,1954
- KNIGGE, K.M., PENROD, C.H. & SCHINDLER, W.J.: In vitro and in vivo adrenal corticosteroid secretion following stress. Ann.J.Physiol. 196:579.1959.
- KOHLER, P.O.; O'MALLEY, B.W.; RAYFORD, P.L.; LIPSETT, M.B. & ODELL, W.D.: Effect of pyrogen on blood levels of pituitary trophic hormones. Observations of the usefulness of the growth hormone response in the detection of pituitary disease. J.Clin.Endocr. 27:219,1967.
- KORNEL, L.: Corticosteroids in human blood. III. Free and conjugated 17-hydroxycorticosteroids in healthy people and patients with Cushing's syndrome, before and after administration of corticotrophin.Acta.Endocr.60:13,1969.
- KORNEL, L.; MOORE, J.T.Jr. & NOYES, I.: Corticosteroids in human blood: IV. Distribution of cortisol and its metabolites between plasma and erythrocytes in vivo. J.Clin.Endocr. 30:40,1970.
- KOZAK, G.P.; PAUK, G.L.; VAGNUCCI, A.I.; LAULER, D.P. & THORN, G.W.: Adrenal secretion after bilateral adrenalectomy for Cushing's syndrome. Ann. Int.Med. 64:778,1966.
- KREINES, K. & ESSELBORN, V.M.: Simultaneous Graves' disease and Cushing's syndrome with unusually low levels of plasma cortisol. J.Clin.Endocri.28:789 1968.

- KRIEGER, D.T. & KRIEGER, H.P.: Circadian variation of the plasma 17-hydroxycorticosteroids in central nervous system disease. J.Clin.Endocr. 26:929,1966.
- KRIEGER, D.T. & KRIEGER, H.P.: Circadian pattern of plasma 17-hydroxycorticosteroid alteration by anticholinergic agents. Science. 155:1421,1967.
- LAIDLAW, J.C.; REDDY, W.J.; JENKINS, D.; ABU HAYDAR, N.; RENOLD, A.E. & THORN, G.W.: Advances in the diagnosis of altered states of adrenocortical function. New Engl. J.Med. 253:747,1955.
- LANDON J.; WYNN, V. & JAMES, V.H.T.: The adrenocortical response to insulin induced hypoglycaemia. J.Endocr. 27:183,1963.
- LANDON, J.; JAMES, V.H.T.; CRYER, R.J.; WYNN, V. & FRANKLAND, A.W.: Adrenocorticotrophic effects of a synthetic polypeptide-¹⁻²⁴B¹⁻²⁴-corticotropin in man. J.Clin.Endocr.24:1206,1964.
- LANDON, J.; WYNN, V.; JAMES, V.H.T. & WOOD, J.B.: Adrenal response to infused corticotropin in subjects receiving glucocorticoids. J.Clin.Endocr.25:602,196 (a),
- LANDON, J.; JAMES, V.H.T. & STOKER, D.J.: Plasma-cortisol response to lysine-vaopresin.Comparison with other test of human pituitary-adrenocortical functi Lancet II:1156,1965 (b)
- LANDON, J. & GREENWOOD, F.C.: Homologous radioimmunoassay for plasma-levels of corticotrophin in man. Lancet. 1:273,1968.
- LARON, Z.; KARP, M.; NITZAN, M. & PERTZELAN, A.: The plasma 11-hydroxycorticosteroids response to insulin-induced hypoglycaemia in children and adolescents. Acta Endocr. 69:451,1969.
- LAZARUS, L.: Factors influencing the accuracy of cortisol secretion rate estimations. J.Clin.Endocr. 22:581.1962.
- LENTLE, B.C. & THOMAS, J.P.: Adrenal function and the complications of diabetes mellitus. Lancet. 2:544,1964.
- LESSOF, M.H.; LYNE, C.; MAISEY, M.N. & STURGE, R.A.: Effect of thyroid failure on the pituitary-adrenal axis. Lancet, I: 642,1969.
- LEWIS, B.: A paper-chromatographic technique for the determination of plasma corticosteroids. J.Clin.Path. 10:148,1957.
- LIBRIK, L. & CLAYTON, G.W.: The measurement of plasma nonesterified fatty acid levels following ACTH release in man. Metabolism, 12,790,1963.

LIDDLE, G.W.; ISLAND, D.; LANCE, E.M. & HARRIS, A.P.: Alterations of adrenal steroid patterns in man resulting from treatment with a chemical inhibitor of 11-b-hydroxilation. J.Clin.Endocr. 18:906,1958.

LIDDLE, G.W.; ESTEP, H.L.; KENDALL, J.W.; WILLIAMS, W.C.; & TOWNES, A.W.: Clinical application of a new test of pituitary reserve. J.Clin.Endocr. 19:875,1959.

LIDDLE, G.W.: Test of pituitary-adrenal suppressibility in the diagnosis of Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr. 20:1539,1960.

LOGAN, R.W. & MURDOCH, W.R.: Blood-levels of hydrocortisone, transaminases and cholesterol after myocardial infarction. Lancet. 2:521,1966.

LOHRENZ, F.N.; SEAL, U.S. & DOE, R.P.: Adrenal function and serum protein concentrations in a kindred with decreased corticosteroid-binding globulin (CBG) concentration. J.Clin.Endocr. 27:966,1967.

LUTON, J.P.; LAUDAT, P., et BRICAIRE, H.: L'emploi de bêta 1-24 corticotrophine retard dans l'exploration fonctionnelle du cortex surrénal. Ann, D'Endocr. (Paris) 30: 456,1969.

LLOYD, C.W.: Hirsutism and virilization. En el cap. 7 "The ovaries" del libro de Williams (Textbook of Endocrinology) 4ª ed. 1968.

M.R.C. COMMITTEE ON CLINICAL ENDOCRINOLOGY.: A standard method of estimating 17-oxosteroids and total 17-oxogenic steroids. Lancet I: 1415,1963.

MADER, W.J. & BUCK, R.R.: Colorimetric determination of cortisone and related ketol steroids. Anal.Chem. 24:666,1952.

MARAÑON, G. y FERNANDEZ NOGUERA, J.: La enfermedad de Addison. Estudio de 400 casos. Espasa-calpe, S.A. Madrid, 1949. pág. 123,127.

MARTIN, J.D. & MILLS, I.H.: The effects of pregnancy on adrenal steroid metabolism. Clin.Sci. 17:137,1958.

MARTIN, M.M. & MARTIN, A.L.A.: Simultaneous fluorometric determination of cortisol and corticosterone in human plasma. J.Clin.Endocr. 28:137,1968.

MARTIN, M.M.; MINTZ, D.H. & TAMAGAKI, H.: Effect of altered thyroid function upon steroid circadian rhythms in man. J.Clin.Endocr. 23:242,1963.

MARTIN, M.M. & MINTZ, D.H.: Effect of altered thyroid function upon - adrenocortical ACTH and methopyrapone (SU-4885) responsiveness in man. J.Clin.Endocr. 25:20,1965.

MATTINGLY, D.: A simple fluorimetric method for the estimation of free 11-hydroxycorticoids in human plasma. J.Clin.Path.15:374,1962.

MATTINGLY, D.; DENNIS, P.M.; PEARSON, J. & COPE, C.L.: Rapid screening test for adrenal cortical function. Lancet. 2:1046,1964.

MATTINGLY, D. & TYLER, C.: Simple screening test for Cushing's syndrome. Brit. Med. J. 4:394,1967.

MAYNARD, D.E.; FOLK, R.L.; RILEY, T.R.; WIELAND, R.G.; GWINUP, G. & HAMWI, G.J.: A rapid test for adrenocortical insufficiency. Ann.Int.Med. 64:552, 1966.

MCDONALD, R.K. & WEISE, V.K.: Effect of Pitressin on adrenocortical activity in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92:107,1956.

McHARDY-YOUNG, S.; HARRIS, P.W.R.; LESSOF, M.H. & LYNE, C.: Single-dose dexamethasone suppression test for Cushing's syndrome. Brit.Med.J. 2:740 1967.

MEIKLE, A.W.; JUBIZ, W.; HUTCHINGS, M.P.; WEST, C.D. & TYLER, F.H.: A simplified metyrapone test with determination of plasma 11-desoxycortisol (metyrapone test with plasmas). J.Clin.Endocr. 29:985,1969.

MELBY, J.C.: Regulatory effect of thyroid hormone in cortisol metabolism. J.Lab.and Clin.Med. 54:924,1959 (a).

MELBY, J.C.: Assessment of adrenocorticotrophic activity with bacterial - pyrogen in hypopituitary states. J.Clin.Invest. 38:1025,1959 (b).

MERRY, J. & MARKS, V.: Plasma-hydrocortisone response to ethanol in chronic alcoholics. Lancet, I:921,1969.

MESS, B & MARTINI, L.: The central nervous system and the secretion of anterior pituitary trophic hormones. En el libro "Recent Advances in - Endocrinology" 8^a ed. por V.H.T. James, 1968.

MIDGLEY, A.R. & NISWENDER, G.D.: Radioimmunoassay of steroids. Acta Endocr. Suppl . 147:320,1970.

MIGEON, C.J.; TYLER, F.H.; MAHONEY, J.P.; FLORENTIN, A.A.; CASTLE, H.; BLISS, E.L. & SAMUELS, L.T.: The diurnal variation of plasma levels and urinary - excretion of 17-hydroxycorticosteroids in normal subjects, night workers and blind subjects. J.Clin.Endocr. 16:622,1956 (a).

MIGEON, C.J.; SANDBERG, A.A.; DECKER, H.A.; SMITH, D.F.; PAUL, A.C., & - SAMUELS, L.T.: Metabolism of 4-C¹⁴-cortisol in man: body distribution and rates of conjugation. J.Clin.Endocr. 16:1137,1956 (b).

MIGEON, C.J.; PRYSTOWSKY, H.; GRUMBACH, M.M. & BYRON, M.C.: Placental passage of 17-hydroxycorticosteroids: comparison of the levels in maternal and fetal plasma and effect of ACTH and hydrocortisone administration. J.Clin.Invest. 35:488,1956 (c).

- MIGEON, C.J.; SANDBERG, A.A.; BLISS, E.L. & KELLER, A.R.: Non conjugated adrenocortical steroids in human plasma: comparison of the Nelson and Samuels method with paper chromatographic techniques. J.Clin.Endocr.16: 253;1956. (d).
- MIGEON, C.J.; GREEN, O.C.; & ECKERT, J.P.: Study of adrenocortical function in obesity. Metabolism. 12:718,1963.
- MIGEON, C.J.; KENNY, F.M. & TAYLOR, F.H.: Cortisol production rate. VIII. Pregnancy. J.Clin.Endocr. 28:661,1968.
- MILLER, M. & MOSES, A.M.: Effect of temperature and dexamethasone on the plasma 17-hydroxycorticoid and growth hormone responses to pyrogen. J.Clin. Endocr. 28:1056,1968.
- MILLS, I.H.; SCHEDL, H.P.; CHEN, P.S. & BARTTER, F.C.: The effect of oestrogen administration on the metabolism and protein binding of hydrocortisone. J. Clin. Endocr. 20:515,1960.
- MLYNARYK, P.; GILLIES, R.R.; MURPHY, B. & PATTEE, C.J.: Cortisol production rates in obesity. J.Clin.Endocr. 22:587,1962.
- MONCLOA, F.; VELEZCO, I.; GUTIERREZ, L.A.: One hour intravenous ACTH test. J.Clin.Endocr. 26:482,1966.
- MOON, H.D. (Editor): The adrenal cortex. International Academy of Pathology Monograph. N.Y. 1961.
- MORRIS, C.J.O.R. & WILLIAMS, D.C.: The polarographic estimation of steroids hormones. Determination of individual adrenocortical hormones in human - peripheral blood. Biochem. J. 54:470,1953.
- MOTTA, M.: FRASCHINI, F. & MARTINI, L.: "Short" feedback mechanisms in the control of anterior pituitary function. En el cap. 6 pág. 211-241, del libro "Frontiers in neuroendocrinology" de W.F.Ganong y L. Martini. O.U.P.London 1969.
- MÜHLEMANN, H.R.; MARTHALER, T.M. & LOUSTALOT, P.: Daily variations in - mitotic activity of adrenal cortex thyroid and oral epithelium of the rat. Proc. Soc. Exp. & Biol. Med. 90:467,1955.
- MURPHY, B.P.; ENGELBERG, W. & PATTEE, C.J.: Simple method for the determination of plasma corticoids. J.Clin.Endocr. 23:293,1963.
- MURPHY, D. & WEST, H.F.: Hydrocortisone metabolism. Lancet. 1:912,1964.
- MURPHY, B.E.P.: Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various - steroids in body fluids by competitive protein-binding radioassay. J.Clin. Endocr. 27:973,1967.

NELSON, D.H. & SAMUELS, L.T.: A method for determination of 17-hydroxy-corticosteroids in blood. J.Clin.Endocrinol & Metabolism. 12:519,1952.

NELSON, D.H.; SPRUNT, J.G. & MIMS, R.B.: Plasma ACTH determinations in 58 patients before or after adrenalectomy for Cushing's syndrome. J.Clin. Endocr. 26:722,1966.

NELSON, J.K.; NEILL, D.W.; MONTGOMERY, D.A.D.; MACKAY, J.S.; SHERIDAN, B. & WEAVER, J.A.: Synacthen Depot-adrenal response in normal subjects and corticotrophin-treated patients. Brit.Med.J. 1:557,1968.

NEY, R.L.; SHIMIZU, N.; NICHOLSON, W.E.; ISLAND, D.P. & LIDDLE, G.W.: Correlation of plasma ACTH concentration with adrenocortical response in normal human subjects, surgical patients, and patients with Cushing's disease. J.Clin.Invest. 42:1669,1963.

NUGENT, C.A.; EIK-NES, K.; KENT, H.S.; SAMUELS, L.T. & TYLER, F.H.: A possible explanation for Cushing's syndrome associated with adrenal hyperplasia. J.Clin.Endocr. 20:1259,1960.

NUGENT, C.A.; NICHOLS, T. & TYLER, F.H.: Diagnosis of Cushing's syndrome. Single dose dexamethasone suppression test. Arch.Int.Med. 116:172,1965.

NUKI, G.; SHEPHERD, J.; DOWNIE, W.W.; DICK, W.C. & HAINSWORTH, I.R.: Adrenocorticotrophic responses to a single injection of tetracosactrin depot and to a standard tetracosactrin infusion. Lancet I: 188,1969 (a).

NUKI, G.; SANDERSON, I.; NICOLL, A.K.; & BELL, M.A.: Eating and corticosteroid levels. Brit.Med. J. 1:574,1969 (b).

O'CONNELL, M. & WELSH, G.W.: Unbound plasma cortisol in pregnant and enovid-E treated women as determined by ultrafiltration. J.Clin.Endocr.29:563,1969.

OPPENHEIMER, J.H.; FISHER, L.V.; & JAILER, J.W.: Disturbance of the pituitary-adrenal interrelationship in diseases of the central nervous system. J. Clin. Endocr. 21:1023,1961.

ORTH, D.N.; ISLAND, D.P. & LIDDLE, G.W.: Experimental alteration of the circadian rhythm in plasma cortisol (17-OHCS) concentration in man. J. Clin.Endocr. 27:549,1967.

PARFITT, A.M.: Cushing's syndrome with "normal" replacement dose of cortisone in pituitary hypothyroidism. J.Clin.Endocr. 24:560,1964.

PAVLATOS, F.C.; SMILO, R.P. & FORSHAM, P.H.: A rapid screening test for Cushing's syndrome. J.A.M.A. 193:720,1965.

PERKOFF, G.T.; EIK-NES, K.; NUGENT, C.A.; FRED, H.L.; NIMER, R.A.; RUSH, L.; SAMUELS, L.T. & TYLER, F.H.: Studies of the diurnal variation of plasma 17-hydroxycorticosteroids in man. J.Clin.Endocr. 19:432,1959.

- PETERSON, R.E. & WYNGAARDEN, J.B.: The miscible pool and turnover rate of hydrocortisone in man. J.Clin.Invest. 34:957,1965.
- PETERSON, R.E.; WYNGAARDEN, J.B.; GUERRA, S.L.; BRODIE, B.B. & BUNIM, J.: The physiological disposition and metabolic fate of hydrocortisone in man. J.Clin.Invest. 34:1779,1955.
- PETERSON, R.E.; KARRER, A. & GUERRA, S.L.: Evaluation of Silber-Porter procedure for determination of plasma hydrocortisone. Anal.Chem. 29:144, 1957.
- PETERSON, R.E.: The influence of the thyroid on adrenal cortisol function. J.Clin.Invest. 37:736,1958.
- PETERSON, R.E.: Metabolism of adrenocorticosteroids in man. Ann. N.Y.Acad. Sci. 87:846,1959.
- PETERSON, R.E.: Adrenocortical steroid metabolism and adrenal cortical function in liver disease. J.Clin.Invest. 39:320,1960.
- PORTER, C.C. & SILBER, R.H.: A quantitative color reaction for cortisone and related 17,21-dihydroxy-20-Ketosteroids. J.Biol.Chem. 185:201,1950.
- RODRIGUEZ MIÑON, J.L.; ARRIETA ALVAREZ, F.; y HERRERA POMBO, J.L.: Pigmen tación de piel y mucosas con neuropatía. Bol. Fund.Jimenez Díaz.II:100, 1970.
- ROGINSKY, M.S.; SHAVER, J.C. & CHRISTY, N.P.: A study of adrenal cortical function in acromegaly. J,Clin.Endocr. 26:1101,1966.
- ROHNER, R. und STUDER, H.: Die wirkung von Depot-ACTH auf die nebennierenrinde mit hoher und niedriger spontanaktivität. Schw. Med. Woch. 99:1581, 1969.
- ROMANOFF, L.P.; BAXTER, M.N.; THOMAS, A.W. & FERRECHIO, G.B.: Effect of ACTH on the metabolism of pregnenolone-7³-H and cortisol-4-¹⁴C in young and elderly men. J.Clin.Endocr. 29:819,1969.
- ROSENTHAL, H.E.; SLAUNWHITE, W.R. & SANDBERG, A.A.: Transcortin. A - corticosteroid-binding protein of plasma. X. Cortisol and progesterone interplay and unbound levels of these steroids in pregnancy. J.Clin. Endocr. 29:352,1969.
- RUDD, B.T.; SAMPSON, P.; & BROOKE, B.N.: A new fluorimetric method of plasma cortisol assay with a study of pituitary adrenal function using metyrapone (SU. 4885). J. Endocr. 27:317,1963.
- RUDD, B.T. & BACK, S.: Contribution of pregnanetriol and pregnanetriolone to the fluorimetric measurement of plasma cortisol. Clin.Chim.Acta. 20:81, 1968.

SANDBERG, A.A.; EIK-NES, K.; MIGEON, C.J. & KOEFF, G.F.: Plasma 17-hydroxycorticosteroids in hyperfunction, suppression, and deficiency of adrenal cortical function. J.Lab.Clin.Med. 50:286,1957.

SANDBERG, A.A. & SLAUNWHITE, W.R.: Transcortin, A corticosteroid binding protein of plasma. II. Levels in various conditions and the effects of estrogens. J.Clin.Invest. 38:1290,1959.

SCHEDL, H.P.; CHEN, P.S.; GREENE, G. & REDD, D.: The renal clearance of plasma cortisol. J.Clin.Endocr. 19:1223,1959.

SCHTEINGART, D.E.; GREGERMAN, R.I. & CONN, J.W.: A comparison of the characteristics of increase adrenocortical function in obesity and in Cushing's syndrome. Metabolism. 12:484,1963.

SCHTEINGART, D.E. & CONN, J.W.: Characteristics of the increased adrenocortical function observed in many obese patients. Ann.N.Y.Acad.Sci. 131:388,1965.

SHANNON, I.L.; PRIGMORE, J.R.; BROOKS, R.A. & FELLER, R.P.: The 17-hydroxycorticosteroids of parotid fluid, serum and urine following intramuscular administration of repository corticotropin. J.Clin.Endocr. 19:1477,1959.

SHANNON, I.L.; BEERING, S.L. & KATZ, F.H.: Parotid fluid steroid responses to ACTH in surgically confirmed cases of Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr. 26:11,1966.

SHENKIN, A.; NUKI, G.; LINDSAY, R.M.; WHALEY, K.; DOWNIE, W.W. & DICK, W.C.: The lysine-vasopressin test. an evaluation of two methods of administration in non-corticosteroid-treated and corticosteroid-treated patients with rheumatoid arthritis. J.Endocr. 47:1,1970.

SHOLITON, L.J.; WERK, E.E. & MARNELL, R.T.: Diurnal variation of adrenocortical function in nonendocrine disease states. Metabolism. 10:632,1961.

SILBER, R.H. & PORTER, C.C.: The determination of 17,21-Dihydroxy-20-Ketosteroids in urine and plasma. J.Biol.Chem. 210:923,1954.

SILBER, R.H., & BUSCH, R.D.: The specificity of the reaction of phenylhydrazine with 17,21-dihydroxy,20-ketosteroids. J.Clin.Endocrinol. & Metab. 15:505,1955.

SILBER, R.H., BUSCH, R.D. & OSLAPAS, R.: Practical procedure for estimation of corticosterone and hydrocortisone. Clin.Chem. 4:278,1958.

SILVERBERG, A.; RIZZO, F. & KRIEGER, D.T.: Nyctohemeral periodicity of plasma 17-OHCS levels in elderly subjects. J.Clin.Endocr. 28:1661. 1968.

SLAUNWHITE, W.R.; & SANDBERG, A.A.: Transcortin: a corticosteroid-binding protein of plasma. J.Clin.Invest. 38:384,1959.

SLAUNWHITE, W.R.Jr.; LOCKIE, G.N. & BACK, N.A.A.: Inactivity in vivo of transcortin bound cortisol. Science. 135:1062,1962.

SMITH, R.W.; MELLINGER, R.C. & PATTI, A.J.: Modifications of the Reddy procedure for 17-hydroxycorticoids in urine. J.Clin.Endocr.14:336,1954.

SMITH, R.W. & MELLINGER, R.L.: Value of urinary 17-hydroxycorticoid level as a criterion of hypercorticism in patients with Cushing's syndrome. J. Clin.Endocr. 16:960,1956.

SOFFER, L.J.; GELLER, J. & GABRILOVE, J.L.: Response of the plasma 17-hydroxycorticosteroid level to gel-ACTH in tumorous and non tumorous - Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr. 17:878,1957

SOFFER, L.J.; IANNAONE, A. & GABRILOVE, J.L.: Cushing's Syndrome. A. - study of fifty patients. Am. J.Med. 30:129,1961.

SOLOMON, N.; CARPENTER, C.C.J.; BENNETT, I.L. & HARVEY, A.M.: Schmidt's syndrome (thyroid and adrenal insufficiency and coexistent diabetes mellitus. Diabetes 14:300,1965.

SPENCER-PEET, J; DALY, J.R. & SMITH, V.: A simple method for improving the specificity of fluorimetric determination of adrenal corticosteroids in - human plasma. J. Endocr. 31:235,1965.

STARR, A.M.: Personality changes in Cushing's syndrome. J.Clin.Endocr.12: 502,1952.

STEINER, A.L.; GOODMAN, A.D. & POWERS, S.R.: Study of kindred with - pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: multiple endocrine neoplasia, type 2. Medicine, 47:371, 1968.

STENLAKE, J.B.; DAVIDSON, A.G.; WILLIAMS, W.D.; & DOWNIE, W.W.: The interference of free and esterified cholesterol in the spectrofluorimetric - measurement of plasma 11-hydroxysteroids. J. Endocr. 46:209,1970.

STEWART, C.P.; ALBERT-RECHT, F. & OSMAN.: The simultaneous fluorimetric microdetermination of cortisol and corticosterone in plasma, Clin.Chim. Acta. 6:696,1961.

STROTT, C.A.; NAKAGAWA, K.; NANKIN, H. & NUGENT, C.A.: A phenylalanine - lysine-vasopressin test of ACTH release. J.Clin.Endocr. 27:448,1967.

STROTT, C.A.; WEST, C.D.; NAKAGAWA, K.; KONDO, T. & TYLER, F.H.: Plasma 11-desoxycorticosteroid and ACTH response to metyrapone (plasma metyrapone test). J.Clin.Endocr. 29:6,1969.

SWEAT, M.L.: Sulfuric acid-induced fluorescence of corticosteroids. Anal. Chem. 26:773,1954.

SZENAS, P. & PATTEE, C.J. : Studies of adrenocortical function in obesity J.Clin.Endocr. 19:344,1959

TAKEBE, K.; SETAISHI, C.; HIRAMA, M.; YAMAMOTO, M. & HORIUCHI, Y.: Effects of a bacterial pyrogen on the pituitary-adrenal axis at various times in the 24 hours. J.Clin.Endocr. 26:437,1966.

TAKEBE, K.; KUROSHIMA, A.; YAMAMOTO, M.; HORIUCHI, Y.; ITOH, S.; BOWERS, C.Y. & SCHALLY, A.V.: Effect of lysine vasopressin dimer on corticotropin release in man. J.Clin.Endocr. 28:73,1968.

TAKEBE, K.; KUNITA, H.; SAWANO, S.; HORIUCHI, Y. & MASHIMO, K.: Circadian rhythms of plasma growth hormone and cortisol after insulin. J.Clin.Endocr. 29:1630,1969.

TOUCHSTONE, J.C. & BLAKEMORE, W.S.: Urinary 6 β -hydroxycortisol in adrenocortical hyperfunction. J.Clin.Endocr. 21:263,1961.

TREADWELL, B.L.J. & DENNIS, P.;. Comparison of depot tetracosactrin and corticotrophin gel. Brit. Med. J. 4: 720,1969.

TRETHOWAN, W.H. & COBB,S.: Neuropsychiatric aspects of Cushing's syndrome. A.M.A. Arch.Neurol. & Psychiat. 67:283,1952.

TSIN, D.A.; AMEZUA, L.; GOLBERG, R.; JANCHES, M.; BOSCHETTI, N. y BALZE,F. A.: Evaluación de la función hipotálamo-hipofisaria encargada de regular la salida de ACTH en el pre y postoperatorio de enfermos con tumores selares. Rev. Iber.Endocr. XVII. 97,1970.

TUCCI, J.R.; JAGGER, P.I., LAULER, D.P. & THORN. G.W.: Rapid dexamethasone suppression test for Cushing's syndrome. JAMA. 199:379,1967.

TUCCI, J.R.; ESPINER, E.A.; JAFFER, P.I.; LANLER, D.P. & THORN. G.W.: Vasopressin in the evaluation of pituitary-adrenal function. Ann.Int.Med. 69:191,1968.

UETE, T.; NISHIMURA, S; OHYA, H.; SHIMOMURA, T. & TATEBAYASHI, Y.: Corticosteroid levels in blood and cerebrospinal fluid in various diseases. J.Clin. Endocr. 30:208,1970.

ULSTROM, R.A.; COLLE, E.; BURLEY, J. & GUNVILLE, R.: Adrenocortical steroid metabolism in newborn infants. II. Urinary excretion of 6 β -Hydroxycortisol and other polar metabolites. J.Clin.Endocr. 20:1080,1960.

URQUHART, J.; YATES, F.E. & HERBST, A.L.: Hepatic regulation of adrenal cortical function. *Endocrinology*. 64:816,1959.

VAN CAUWENBERGE, H.: Actual concepts of solicylates activity. *Acta Med. Scand. Supple.* 150 a 162, pag. 225, 1957-58.

VAN DER VIES, J.: Individual determination of cortisol and corticosterone in a single small sample of peripheral blood. *Acta. Endocr.* 38:399,1961.

VAN DER WAL, B.; WIEGMAN, T.; JANSSEN, J.F.; DELVER, A.; & WIED, D.: - Evaluation of pituitary-adrenal function in children. *Acta Endocr.* 48:81, 1965.

VAN WYK, J.; DUGGER, G.S. & NEWSOME, J.F.: The effect of pituitary stalk-section on the adrenal function of women with cancer of the breast. *Clin. Res.* 8:87,1960.

VERMEULEN, A & VAN DER STRAETEN, M.: Determination of plasma cortisol by a fluorometric method. *J.Clin.Endocr.* 24:1188,1964.

VIVANCO, F.; RAMOS, F. y ARRIETA, F.: Pruebas de medición de la reserva adreno-cortical. Comunicación al I Coloquio Europeo de Endocrinología . Playa de Aro. (España) Mayo 1961.

WEBB-PEPLOE, M.M.; SPATHIS, G.S. & REED, P.I.: Cushing's syndrome: use of lysine vasopressin to distinguish overproduction of corticotrophin by pituitary from other causas of adrenal cortical hyperfunction. *Lancet* I:195, 1967.

WERK, E.E.; THEISS, K.E.; CHOI, Y.K. & MARNELL, R.T.: Interference of - heparin containing benzyl alcohol in the fluorometric determination of plasma corticosteroids. *J.Clin.Endocr.* 27:1350,1967.

WEST, C.D.; BROWN, H.; SIMONS, E.L.; CARTER, D.B.; KUMAGAI, L.F. & ENGLERT, E.: Adrenocortical function and cortisol metabolism in old age. *J.Clin. - Endocr.* 21:1197,1961.

WEXLER, B.C.; DOLGIN, A.E.; TRYCZYNSKI, E.W.: Effects of bacterial polysaccharide (piromen) on the pituitary-adrenal axis: adrenal ascorbic acid, - cholesterol and histologic alterations. *Endocrinology*, 61:300,1957.

WHALLEY, K.; SOUTTER, W.P.; DICK, W.C.; NUKI, G. & DOWNIE, W.W.: Assessment of a test of adrenocortical function using β 1-25 corticotrophin. *J.Endocr.* 44:513,1969.

WOOD, J.B.; FRANKLAND, A.W.; JAMES, V.H.T. & LANDON., J.: A rapid test of adrenocortical function. *Lancet* I: 243,1965.

WU, C. & MASON, H.L.: Chemical determination of cortisol in blood plasma. Proc.Staff.Meet. Mayo Clin. 33:627,1958.

WURTMAN, R.J.: Control of epinephrine synthesis in the adrenal medulla by the adrenal cortex. Hormonal specificity and dose-response characteristics. Endocrinology, 79:608,1966.

YATES, F.E.; URQUHART, J. & HERBST, A.L.: Effects of thyroid hormones on ring A reduction of cortisone by liver. Am.J.Physiol. 195:373,1958.

YATES, F.E. & URQUHART, J.: Control of plasma concentrations of adrenocortical hormones. Physiological Reviews. 42:359,1962.

ZUMOFF, B.; BRADLOW, H.L.; GALLAGHER, T.F. & HELLMAN, L.: Cortisol metabolism in cirrhosis. J.Clin.Inv. 46:1735,1967.

II - 1	Hidro cortisona o cortisol (Fórmula)	pág. 12
II - 2	Biosíntesis del cortisol.....	pág. 15
II - 3	Regulación de la secreción del cortisol y sitios probables de acción de diversas sustancias empleadas en las pruebas dinámicas.....	pág. 78
IV - 1	Espectros de emisión y excitación de la hidrocortisona.....	pág. 102
IV - 2	Proporcionalidad de las lecturas del cortisol a diferentes concentraciones.....	pág. 103
IV - 3	Destrucción del cortisol con hidroxilamina.....	pág. 104
IV - 4	Diferencias entre la agitación mecánica y manual.....	pág. 109
VI-A-1	Cifras basales de cortisol en plasma.....	pág. 122
VI-A-2	Concentración nocturna del cortisol en plasma....	pág. 124
VI-A-3	Ritmo circadiano del cortisol plasmático en sujetos normales.....	pág. 126
VI-A-4	Caída nocturna del cortisol plasmático en sujetos normales.....	pág. 127
VI-A-5	Caída nocturna del cortisol plasmático.....	pág. 129
VI-A-6	Respuesta del cortisol plasmático a la inyección i.v. directa de 25 U. de ACTH sintético.....	pág. 133
VI-A-7	Estimulación con 25 U. de ACTH en infusión intravenosa durante 8 horas.....	pág. 136
VI-A-8	Respuesta del cortisol plasmático a la supresión nocturna con 1 mg. de dexametasona (Mugent).....	pág. 139
VI-A-9	Estímulo con Lisina-8-Vasopresina 10 U.I. en iny. i.m.	pág. 142
VI-A-10	Fluorescencia inespecífica del plasma.....	pág. 144
VI-B-1	Cortisol basal en 83 normales según sexo y edad..	pág. 157
VI-C-1	Comparación de las basales del cortisol en plasma y de los 17-hidroxicorticoides en orina de 24 h. Valores medios.....	pág. 212

VI-C-2	Comparación del cortisol plasmático a las 2 horas - del estímulo i.v. directo de ACTH sintético con los 17-OHCS en orina el 2º día de la infusión de ACTH. Valores medios.....	pág. 218
VI-C-3	Comparación de las concentraciones basales y después del estímulo con ACTH del cortisol plasmático y de los 17-OHCS en orina de 24 horas. Grupos representa tivos.....	pág. 219
VI-C-4	Comparación de la respuesta del cortisol plasmático y de los 17-OHCS urinarios a la infusión de 25 U. de ACTH durante 8 horas. Valores medicos del 2º día..	pág. 224
VI-C-5	Comparación de la respuesta del cortisol plasmático y de los 17-hidroxycorticoides en orina a la infu sión de 25 U. de ACTH durante 8 horas. Basal, 1º y 2º días.....	pág. 225
VI-C-6	Prueba de supresión con dexametasona 5 mg/día duran te 4 días, 17-OHCS urinarios y cortisol plasmático..	pág. 228

INDICE DE TABLAS

II - 1	Secreción diaria (en 24 horas) de esteroides suprarrenales aislados de la vena adrenal en el hombre adulto.	pág. 17
II - 2	Metabolismo del cortisol.....	pág. 35
II - 3	Sujetos normales: respuesta del cortisol en plasma al estímulo con ACTH. Según diversos autores.....	pág. 59
II - 4	Respuesta del cortisol en plasma al estímulo con pirógenos en inyección i.v.	pág. 68
II - 5	Respuesta del cortisol en plasma al estímulo de la hipoglucemia insulínica.....	pág. 68
III - I	Concentración del cortisol en plasma, a primera hora de la mañana en sujetos normales adultos. Según diversos métodos y autores.....	pág. 94
IV - 1	Recuperación del cortisol añadido a varias muestras de plasma.....	pág. 106
IV - 2	Influencia del momento de la separación del plasma sobre la determinación del cortisol.....	pág. 107
IV - 3	Conservación de los plasmas en nevera.....	pág. 107
IV - 4	Tiempo de lectura en 14 plasmas.....	pág. 107
VI-A-1	Cortisol plasmático basal: Según sexo.....	pág. 119
VI-A-2	Cortisol plasmático basal: Hora 8,00 - 9,00.....	pág. 121
VI-A-3	Cortisol plasmático a la noche (hora 22,30 - 23,30)..	pág. 123
VI-A-4	Caída nocturna del cortisol plasmático.....	pág. 128
VI-A-5)	Cortisol plasmático a la 1/2 hora de la iny. i.v. di-	pág.
VI-A-6)	recta de ACTH sintético.....	pág. 131
VI-A-7 (Cortisol plasmático a las 2 horas de la iny. i.v. di	
VI-A-8)	recta de ACTH sintético.....	pág. 132
VI-A-9 }		
VI-A-10	Estímulo del cortisol plasmático mediante infusión de 25 U.I. de ACTH durante 8 horas.....	pág. 135

VI-A-11	Supresión nocturna con 1 mg de dexametasona.....	pág. 138
VI-A-11bis	Respuesta del cortisol plasmático al estímulo i.m. con 10 U.I. de Lisina-3-Vasopresina.....	pág. 138
VI-A-12	Estímulo con Lisina-8-Vasopresina: resultados obtenidos por la mañana y por la tarde en norma les.....	pág. 141
VI-A-13	Estímulo con Lisina-8-Vasopresina en normales e hipofunciones suprarrenales hipofisarias por la mañana.....	pág. 141
VI-A-14	Fluorescencia inespecífica del plasma ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) según tipo de prueba y diagnóstico.....	pág. 145
VI-A-15	Fluorescencia inespecífica según tipo de prueba.	pág. 146
VI-A-16	Fluorescencia inespecífica en los diferentes - grupos diagnosticos.....	pág. 147
VI-A-17	Fluorescencia inespecífica según sexo y edad...	pág. 148
VI-A-18	Fluorescencia inespecífica. Influencia de la - hemolisis.....	pág. 148
VI-A-19	Fluorescencia inespecífica. Días que permanecie ron los plasmas en nevera (-4° a 0° C.).....	pág. 150
VI-A-20	Fluorescencia inespecífica repetida en 29 suje- tos en las mismas condiciones.....	pág. 150
VI-B-1	Cortisol basal en 83 individuos normales.....	pág. 154
VI-B-2	Cortisol basal en 83 normales según sexo y edad.	pág. 156
VI-B-3	Ritmo circadiano del cortisol plasmático en 24 sujetos normales.....	pág. 158
VI-B-4	Estímulo con 25 U.I. de ACTH sintético en iny. i.v. directa (normales).....	pág. 160
VI-B-5	Normales: infusión de 25 U.I. de ACTH durante 3 horas.....	pág. 161
VI-B-6	Respuesta del cortisol plasmático a la supresión nocturna de 1 mg. de dexametasona.....	pág. 162
VI-B-7	Estímulo con L-8-Vasopresina en iny. i.m. en 12 normales.....	pág. 163
VI-B-8	Addison: Ritmo circadiano y estímulo con ACTH - sintético.i.v.	pág. 166
VI-B-9	Cortisol basal en 6 sujetos suprarrenalectomi- zados.....	pág. 168
VI-B-10	Addison: infusión de ACTH 25 U.I. durante 8 h..	pág. 168

VI-B-11	Reserva adrenal disminuida: Ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 170
VI-B-12	Melanosis no addisonianas: ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 172
VI-B-13	Insuficiencia suprarrenal hipofisaria: Ritmo circadiano estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 174
VI-B-14	Insuficiencia adrenal hipofisaria: comparación - del estímulo β 1-24 corticotrofina y el pentacosapéptido.....	pág. 174
VI-B-15	Insuficiencia adrenal hipofisaria: Goteo i.v. de 8 horas con 25 U.I. de ACTH.....	pág. 175
VI-B-16	Insuficiencia adrenal hipofisaria: Estímulo con Lisina-8-Vasopresina 10 U.I.....	pág. 175
VI-B-17	Hiperfunción suprarrenal: Ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 177
VI-B-18	Ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo en 13 casos de hiperfunción suprarrenal agrupados según su etiología.....	pág. 179
VI-B-19	Hiperfunción suprarrenal: Estímulo con ACTH en perfusión i.v. de 8 horas.....	pág. 182
VI-B-20	Hiperfunción suprarrenal: Supresión rápida con 1 mg. de dexametasona nocturno.....	pág. 182
VI-B-21	Estímulo con L-8-Vasopresina en 3 casos de hiperfunción adrenal.....	pág. 182
VI-B-22	Cortisol basal, noche y caída nocturna en 20 pacientes obesos.....	pág. 185
VI-B-23	Estímulo con ACTH i.v. directo en 7 pacientes - obesos.....	pág. 186
VI-B-24	Supresión nocturna con 1 mg. de dexametasona en 12 obesos.....	pág. 186
VI-B-24 bis	Estímulo con ACTH en perfusión i.v. de 8 horas en 5 obesos.....	pág. 187
VI-B-25	Hirsutismos: Ritmo circadiano y estímulo con - ACTH i.v. directo.....	pág. 189
VI-B-26	Acromegalia: Ritmo circadiano y estímulo con - ACTH i.v. directo	pág. 191
VI-B-27	Acromegalia: Infusión de ACTH durante 8 horas...	pág. 191
VI-B-28	Acromegalia: Estímulo con 10 U.I. de L-8-Vasopresina i.m.....	pág. 193

VI-B-29	Hipotiroidismos: Ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 195
VI-B-30	Hepatopatías crónicas y hemocromatosis: Ritmo - circadiano.....	pág. 197
VI-B-31	Hepatopatías crónicas y hemocromatosis. Estimulación con ACTH i.v. directo y en goteo de 8 horas.	pág. 197
VI-B-32	Grupo misceláneo: Ritmo circadiano y estímulo con ACTH i.v. directo.....	pág. 199
VI-B-33	Grupo misceláneo: Estímulo con 10 U.I. de L-8-Va sopresina.....	pág. 202
VI-C-1	Comparación de las basales del cortisol en plasmas y de los 17-hidroxycorticoides en orina de - 24 horas. Valores individuales.....	pág. 206
VI-C-2	Comparación entre las basales del cortisol plasmático y de los 17-hidroxycorticoides en orina de 24 horas. Valoración.....	pág. 211
VI-C-3	Comparación de la respuesta del cortisol plasmático a la iny. i.v. directa de ACTH, con respuesta de los 17-OHCS urinarios a la infusión de - ACTH en 8 horas. Valores individuales.....	pág. 214
VI-C-4	Comparación de la respuesta del cortisol plasmático a la iny. i.v. directa de ACTH, con la respuesta de los 17-OHCS urinarios a la infusión de ACTH en 8 horas. Valoración de conjunto.....	pág. 216
VI-C-5	Respuesta del cortisol plasmático y de los 17-hidroxycorticoides urinarios a la infusión de 25 U. de ACTH durante 8 horas. Valores individuales.....	pág. 221
VI-C-6	Comparación de la respuesta del cortisol plasmático y de los 17-hidroxycorticoides a la infusión de 25 U. de ACTH durante 8 horas. Valoración de conjunto.....	pág. 223
VI-C-7	Comparación de la supresión con Dexametasona en plasma (cortisol) y en orina (17-OHCS).....	pág. 227
VI-C-8	Comparación de la prueba de Lisina-8-Vasopresina midiendo cortisol en plasma con la de metopirona midiendo 17-OHCS en orina.....	pág. 230

VII-1	Respuesta del cortisol en plasma al estímulo con con ACTH según diversos autores. Sujetos normales. pág. 237
VII-2	Respuesta del cortisol en plasma al estímulo con Lisina-8-Vasopresina, según diversos autores, por la mañana..... pág. 239
VII-3	Respuesta del cortisol en plasma al estímulo con Lisina-8-Vasopresina según diversos autores, por la tarde..... pág. 240
VII-4	Ventajas de la determinación del cortisol en plas ma sobre los 17-hidroxycorticosteroides en la ori na de 24 horas..... pág. 252

INDICE DE MATERIAS

I	INTRODUCCION	pág. 2
II	REVISION SOBRE LOS CONOCIMIENTOS ACTUALES DEL METABOLISMO DEL CORTISOL.....	pág. 9
	A - Lugar de producción.....	pág. 12
	B - Biosíntesis.....	pág. 14
	C - Cuantía de secreción.....	pág. 16
	D - Transporte en la sangre.....	pág. 18
	E - Nivel sanguíneo. Vida media. Ritmo circadiano	pág. 22
	F - Regulación de la secreción del cortisol.....	pág. 25
	G - Acción biológica del cortisol.....	pág. 26
	H - Catabolismo del cortisol.....	pág. 32
	I - Fisiopatología del cortisol en diversas situaciones normales y patológicas.....	pág. 34
	1 - feto.....	pág. 34
	2 - recién nacido.....	pág. 36
	3 - edad.....	pág. 37
	4 - sexo.....	pág. 38
	5 - embarazo.....	pág. 39
	6 - stress.....	pág. 40
	7 - síndrome de Cushing.....	pág. 41
	8 - enfermedad de Addison.....	pág. 43
	9 - hipopituitarismo.....	pág. 44
	10 - hiperplasia suprarrenal congénita.....	pág. 45
	11 - tratamiento prolongado con corticoides.....	pág. 46
	12 - obesidad.....	pág. 47
	13 - hepatopatías crónicas.....	pág. 49
	14 - hipertiroidismo.....	pág. 51
	15 - hipotiroidismo.....	pág. 53
	16 - diabetes.....	pág. 54
	17 - feocromocitoma.....	pág. 55
	18 - acromegalia.....	pág. 55

19 - otras situaciones.....	pág. 56
J - Pruebas dinámicas del cortisol en plasma.....	pág. 57
1 - estímulo con ACTH.....	pág. 57
2 - supresión con Dexametasona.....	pág. 63
3 - estímulo indirecto del cortisol a través del - eje SNC-Hipotálamo-Hipófisis.....	pág. 64
a) metopirona.....	pág. 65
b) pirógenos.....	pág. 67
c) hipoglucemia.....	pág. 69
d) L-8-Vasopresina..	pág. 70
e) comentario a estas pruebas.....	pág. 73
III METODOS EXISTENTES PARA LA DETERMINACION DEL CORTISOL EN PLASMA.....	pág. 79
A - Generalidades.....	pág. 80
B - Métodos colorimétricos basados en la reacción Porter y Silber.....	pág. 83
C - Métodos fluorimétricos.....	pág. 85
D - Métodos isotópicos.....	pág. 89
E - Conclusiones.....	pág. 92
IV METODO UTILIZADO EN ESTE TRABAJO.....	pág. 96
Reactivos y soluciones.....	pág. 97
Descripción del método.....	pág. 99
Espectros de excitación y emisión.....	pág. 101
Proporcionalidad de las lecturas.....	pág. 101
Acción de la hidroxilamina.....	pág. 101
Recuperación.....	pág. 105
Algunas observaciones sobre el método.....	pág. 105
V MATERIAL Y METODICA EMPLEADOS.....	pág. 112

VI	RESULTADOS.....	pág. 117
A	- Por tipos de determinaciones y pruebas realizadas.	pág. 118
1	- Basal.....	pág. 119
2	- Noche.....	pág. 120
3	- Ritmo circadiano del cortisol:Caída nocturna..	pág. 125
4	- Estímulo con 25 U.I. de ACTH sintético en iny. i.v. directa.....	pág. 130
5	- Prueba de estimulación mediante infusión i.v. de 25 U. de ACTH durante 8 horas.....	pág. 134
6	- Supresión rápida con 1 mg. de Dexametasona noc turna.....	pág. 137
7	- Prueba de reserva hipofisaria con la iny. i.m. de 10 U.I. de Lisina-8-Vasopresina.....	pág. 137
8	- Fluorescencia inespecífica del plasma.....	pág. 140
B	- Por grupos de sujetos considerados.....	pág. 151
1	- sujetos normales.....	pág. 152
2	- Enfermedad de Addison.....	pág. 164
3	- Reserva adrenal disminuida o insuficiencia - adrenal primaria parcial.....	pág. 169
4	- Melanosis no addisoniana.....	pág. 171
5	- Insuficiencia suprarrenal de origen hipofisario	pág. 173
6	- Hiperfunciones suprarrenales.....	pág. 176
7	- Obesidad.....	pág. 184
8	- Hirsutismos idiopáticos.....	pág. 188
9	- Acromegalias.....	pág. 190
10	- Hipotiroidismo.....	pág. 194
11	- Hepatopatías crónicas.....	pág. 196
12	- Grupo misceláneo.....	pág. 198
C	- Comparación de las concentraciones del cortisol en plasma y de los 17-hidroxycorticoides en la orina de 24 horas.....	pág. 204
1	- Basales.....	pág. 205
2	- Respuesta del cortisol en plasma a la iny. i.v. directa de 25 U. de ACTH sintético y de los 17- OHCS urinarios a la infusión de 25 U. de ACTH durante 8 horas.....	pág. 213

3 - Respuesta del cortisol en plasma y de los 17-hidroxycorticoides urinarios a la infusión de ACTH durante 3 horas en dos días consecutivos..	pág. 220
4 - Supresión en plasma y en orina.....	pág. 226
5 - Prueba de metopirona y estimulación con L-8-Va-sopresina.....	pág. 226
 VII DISCUSION.....	 pág. 231
1 - Método fluorimétrico empleado.....	pág. 232
2 - Sujetos normales.....	pág. 234
3 - Enfermedad de Addison.....	pág. 238
4 - Reserva adrenal disminuida.....	pág. 241
5 - Melanosis no addisoniana.....	pág. 242
6 - Insuficiencia suprarrenal hipofisaria.....	pág. 243
7 - Hiperfunción suprarrenal (Cushing).....	pág. 244
8 - Obesidad.....	pág. 247
9 - Hirsutismos.....	pág. 243
10 - Acromegalia.....	pág. 243
11 - Hipotiroidismo.....	pág. 249
12 - Hepatopatías.....	pág. 249
13 - Grupo misceláneo.....	pág. 250
14 - Comparación del cortisol en plasma con los 17-OHCS urinarios.....	pág. 250
15 - Comparación de las diferentes pruebas de estimulación con ACTH.....	pág. 253
 VIII CONCLUSIONES.....	 pág. 256
 IX BIBLIOGRAFIA.....	 pág. 262
INDICES..... de gráficas.....	pág. 286
de tablas.....	pág. 288
de materias.....	pag. 293